Aus dem Anatomischen Institut
der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr.med. H.-J. Merker

UNTERSUCHUNGEN ZUR EMBRYOTOXIZITÄT UND TERATOGENITÄT DER BEIDEN MEDIZINISCH VERWENDETEN ANTIHISTAMINIKA DIPHENHYDRAMIN UND DIPHENYLPYRALIN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den
Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Jochen Bangel
aus Westhofen/Rheinhessen

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41544718_0038

Aus dem Anatomischen Institut (Geschäftsführender Direktor Prof. Dr. med. H.-J. MERKER) der Freien Universität Berlin

---

Untersuchungen zur Embryotoxizität und Teratogenität der beiden medizinisch verwendeten Antihistaminika Diphenhydramin und Diphenylpyralin.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde an den
medizinischen Fachbereichen
der
Freien Universität Berlin

von
Jochen Bangel
aus
Westhofen/Rheinhessen

Referent: Prof. Dr. med. M. Pospisil

Korreferent: Prof. Dr. med. D. Neubert

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Tag der Promotion: 20. Januar 1978

Gliederung

		Seite
1.	Pharmakologie der Antihistaminika	4
2.	Teratogene Wirkungen der Antihistaminika	7
3.	Untersuchungsergebnisse zur Teratogenität und Embryotoxizität von Diphenhydramin und Diphenylpyralin	17
4.	Material und Methoden	21
4.1.	Substanzen	21
4.2.	Tiermaterial	21
4.3.	Einteilung der Versuchsgruppen	21
4.4.	Zucht und Haltung der Versuchstiere	23
4.5.	Herstellung der fetalen Skelettpräparate	23
4.6.	Untersuchung des fetalen Skeletts	25
4.7.	Histologische Untersuchungen	25
4.8.	Statistische Analysen	25
5.	Ergebnisse der Versuche	28
6.	Diskussion der Ergebnisse	43
6.1.	Wirkungen des Diphenhydramin auf die intrauterine Entwicklung von BD-Ratten	43
6.2.	Wirkungen des Diphenylpyralin auf die intrauterine Entwicklung von BD-Ratten	44
6.3.	Einfluß einer Kombination von Diphenhydramin und Diphenylpyralin auf die intrauterine Entwicklung von BD-Ratten	47
6.4.	Unterschiedliche Sensibilität der geprüften Parameter	49
6.5.	Konstruktion von Ossifikationsmustern für teratogene Analysen	51
6.6.	Zur Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse auf den Menschen	52
7.	Zusammenfassung	56
8.	Literaturverzeichnis	59
Anhang: Abbildungen A 1 - A 10		66
Lebenslauf		79

1. Pharmakologie der Antihistaminika

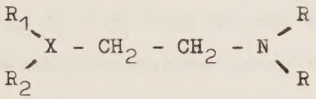
Als pharmakologische Wirkungen des in der Natur sowohl bei Pflanzen wie bei Tieren weit verbreiteten und in menschlichen Geweben in den Mastzellen gespeicherten biogenen Amins H i s t a m i n (Abb.1) werden beschrieben (MUTSCHLER 1973, KUSCHINSKY & LÜLLMANN 1974):

- Erregung glatter Muskulatur von Hohlorganen (Uterus, Darm), vor allem Bronchokonstriktion;
- Erschlaffung der glatten Gefäßmuskulatur (Vasodilatation) und Steigerung der Gefäßpermeabilität bis zu Ödemen;
- Auslösung der Sekretion von Magensäure (durch Angriff an besonderen Histamin-Rezeptoren ?);
- Beteiligung an allergischen Reaktionen (Freisetzung bei Antigen-Antikörper-Reaktionen);
- nach intrakutaner Applikation (Insektenstiche z.B.) Bildung von Quaddeln, Juckreiz, Entzündungen, Ödemen;
- "Im Gewebe naszierendes, nicht das in den Mastzellen gespeicherte, Histamin scheint im Zusammenhang mit schnellem Wachstum von Zellen im Embryo, in heilenden Wunden, Tumoren usw. eine physiologische Bedeutung zu besitzen" (KUSCHINSKY & LÜLLMANN 1974, S. 4o).

Viele Einzelheiten über die Bedeutung des Histamins für physiologische und pathologische Prozesse und über die Mechanismen seiner Wirkung sind unbekannt..

Substanzen, die bestimmte Wirkungen des Histamins (in Experimenten) hemmen, werden in der Pharmakologie als Antihi-

nika bezeichnet. Die Wirkungen der "klassischen" Antihistaminika mit der chemischen Grundstruktur (KUSCHINSKY und LÜLLMANN 1974)



(Beispiele vergl. Abb. 1)

bestehen in einer reversiblen kompetitiven Hemmung der H_1-Rezeptoren, so daß Histamin nicht mehr mit diesen Rezeptoren reagieren kann. Die Freisetzung oder Bildung von Histamin wird nicht beeinflußt. Das Atom X steht für Stickstoff, Sauerstoff oder Kohlenstoff, wobei Stickstoff oder Kohlenstoff ringständig sein können. Eine optimale Antihistaminwirkung wird erzielt, wenn beide Substituenten R am Stickstoff $-CH_3$ - Gruppen sind.

Nicht alle bei therapeutischer Anwendung von Antihistaminika beim Menschen beobachteten Effekte lassen sich auf einen Histaminantagonismus beziehen. Das "klassische" Antihistaminikum Diphenhydramin hat histaminantagonistische, antiemetische, sedative, anticholinerge und lokalanästhetische Wirkungen. Ausgehend von den histaminantagonistischen Substanzen wurden die wichtigsten Neuroleptika und Antidepressiva sowie einige Antiparkinsonmittel und Antiemetika entwickelt.

Die therapeutische Anwendung der Antihistaminika erfolgt bei allergischen Reaktionen, als Antiemetikum und als leichtes Sedativum in Kombinationspräparaten (Hustenmittel, Schlafmittel, symptomatische Grippemittel). Bei antiemetisch

wirksamer Dosierung von Diphenhydramin ist die eintretende Sedation als Nebenwirkung oft unerwünscht. Man kann dann die sedationsfreien Antihistaminika Mebhydrolin und Meclastin einsetzen. Bei oraler Gabe von dreimal 25 - 50 mg Diphenhydramin tgl. wird ein Nachlassen der guten antiemetischen Wirkung nach 8 - 14 Tagen beobachtet (vgl. Arzneimittelbrief 1977, HABERMANN, LÖFFLER 1975).
Die verschiedenen antihistaminen Substanzen wirken beim Menschen unterschiedlich lange (Wirkungsdauer). Eine orale Einzelldosis z. B. von 25 - 50 mg Diphenhydramin wirkt für etwa 7 - 8 Stunden, während die neueren, wirksameren Mittel z. B. Clemastin und Dimetinden in einer oralen Einzeldosis von nur 1 mg für 12 - 14 Stunden wirken (FORTH, HENSCHLER, RUMMEL 1976).

In der menschlichen Frühschwangerschaft ist Schwangerschaftserbrechen (Hyperemesis gravidarum) ein Hauptindikationsgebiet für antiemetisch wirkende Antihistaminika. Es ist daher verständlich, daß wegen der Thalidomid-Katastrophe auch die Gruppe der Antiemetika auf mögliche teratogene Nebenwirkungen untersucht worden ist.

2. Teratogene Wirkungen der Antihistaminika

Antiemetisch wirkende Pharmaka fanden in der menschlichen Frühschwangerschaft weite Verbreitung und kamen in den Verdacht der Teratogenität. Zunächst wurden die möglichen teratogenen Wirkungen des Meclozin (Abb. 1) ausführlich diskutiert, jedoch nicht bestätigt (vgl. Meclozin - Symposium, 1963). So wurde in einer schwedischen retrospektiven Studie an ca. 150 Frauen mit mißgebildeten Kindern von WINBERGER (s. Symposium) gefunden, daß Meclozin etwa viermal häufiger eingenommen worden war als von Müttern mit Kindern ohne Mißbildungen. Bereits auf dem zit. Symposium zog WINBERGER diesen Verdacht zurück. Nach Erweiterung der anamnestischen Erhebung in der Meclozin-Gruppe traten bei 351 Geburten vier schwerere Mißbildungen auf. In einer Vergleichsgruppe mit Behandlung durch Phenobarbital und Coffein, (diese beiden Mittel wurden als ateratogen angesehen) fanden sich bei 408 Geburten drei schwerere Mißbildungen. Die Unterschiede waren nicht signifikant. Zusätzliche statistische Erhebungen von MELLIN, ROSA, WEICKER, HAUSER, GANDER, SMITHELLS, MORANDI & MARCHIONINI, SJÖVALL & URSING, BIERING-SÖRENSEN, VILLUMSEN & ZACHAU-CHRISTENSEN und NOACK (vgl. Meclozin - Symposium, 1963) an einem sehr viel umfangreicheren Patientengut ergaben dann keine Anzeichen mehr für den Verdacht einer Teratogenität von Meclizin, da nach Therapie mit diesem antiemetischen Antihistaminikum weder ein allgemeiner Frequenzanstieg kongenitaler Mißbildungen noch eine Häufung spezifischer Mißbildungen zu verzeichnen war. Auf diesem Symposium war u. a. NOACK der Ansicht, daß "die durch Hyperemesis gravidarum ver-

ursachte Stoffwechselstörung selbst zu kongenitalen Mißbildungen führen" könne. Es soll an dieser Stelle bereits vermerkt werden, daß trotz des nach der Thalidomid-Katastrophe bald wieder einsetzenden zunehmenden Medikamentengebrauchs in der Schwangerschaft (MAUSS 1972), trotz intensiver statistischer Überwachungen und groß angelegter prospektiver wie retrospektiver Untersuchungsreihen (z. B. MOELLIN & KATZENSTEIN 1963, YERUSHALMY & MILKOVICH 1965, NOVA et al. 1967, FARKAS & FARKAS 1971, NELSON & FORFAR 1971, SAXEN 1974) für kein therapeutisch genutztes Antihistaminikum Teratogenität beim Menschen bewiesen wurde. So wird verständlich, daß trotz bereits bekannter tierexperimenteller Resultate sowie später intensivierter experimenteller Studien das teratogene Risiko einer Anwendung von Antihistaminika in der Frühschwangerschaft des Menschen als vergleichsweise gering angesehen wird bzw. als vernachlässigbar betrachtet wird. WILSON (1973) gliedert "Tranquilizers and antiemetics generally" in die Gruppe der "Drugs involving little or no teratogenic risk" ein und führt aus:

"Like cortison these classes of drugs are assumed to have little or no teratogenic potential in man because they also have been extensively used. Both of these classes have, nevertheless, been held suspect because of their categorical association with thalidomide, a know teratogen, and meclizine, a drug at one time suspected of being teratogenic. The truism that when an association is looked for on a large scale and is not found it is safe to assume that such an association is unfrequent in occurrence, applies to this category of drugs as regards their teratogenicity. A small reservation must be held, however, be-

cause in the event of infrequent occurrence it is often impossible to distinguish between coincidence anda low level of cause-effect relation."

HUETER (1973)hat in seine Liste der Substanzen, die in der menschlichen Schwangerschaft kontraindiziert sind, weder Antihistaminika noch Antiemetika aufgenommen. KUEMMERLE & STAMM (1973) greifen die älteren Empfehlungen von APGAR und DÖRING auf und empfehlen selbst Antihistaminika als Mittel der Wahl bei der Behandlung der Hyperemesis gravidarum. Auch MAUSS (1972), der die Medikamenteneinnahme in der Frühschwangerschaft analysiert, bezeichnet den vermehrten Verbrauch an "Venotherapeutika, Antiemetika, Enzymen oder Hormonen" als Anzeichen für eine "weiter intensivierte Schwangerschaftsbetreuung".

Die Überlegungen zur Teratogenität von Antihistaminika beim Menschen werden weiter durch die Diskussion über eine Teratogenität der Hyperemesis gravidarum selbst oder durch diese induzierte Stoffwechselstörungen überlagert. So sollen generell Belastungen verschiedenster Art in der menschlichen Schwangerschaft die Frequenz von Mißbildungsgeburten erhöhen (SHAPIRO et al. 1965). Beim Kaninchen wirken (auch durch Hyperemesis induzierbare) Veränderungen des wasser- und Elektrolythaushaltes (GROTE 1969) teratogen, bei Mäusen experimentelle Streßeinwirkungen (PETERS & STRASSBURG 1969).

Über die Teratogenität der Hyperemesis gravidarum beim Menschen gehen die Meinungen auseinander; sie wird von SOERGEL (1960), HOHLBEIN, NOACK, DÖRING & HUSSFELD, WIDOK & WIDOK (1961/64, zit. bei FARKAS & FARKAS 1971) sowie von RICHARDS (1972, zit. bei SAXEN 1974) bejaht, von FRASER (1973, zit. bei SAXEN 1974),

FARKAS & FARKAS (1971) und SAXEN (1974) verneint.
Zusammenfassend läßt sich sagen, daß selbst die in der Behandlung der Hyperemesis gravidarum eingesetzten antiemetischen Antihistaminika trotz ihres umfangreichen Gebrauchs in den üblichen Dosierungen (vgl. Tabelle 8) aufgrund klinisch-statistischer Erhebungen keinen Anlaß bieten, von einem teratogenen Risiko dieser Substanzen zu sprechen, obgleich in der Folgezeit für eine Vielzahl dieser Verbindungen (vgl. Abb. 1) im Tierexperiment über embryotoxische und teratogene Effekte berichtet wurde.
In der nachfolgenden Tabelle1sind die wichtigsten Arbeiten zur Teratogenität von Antihistaminika zusammengestellt.
Die Formeln (nach MUTSCHLER 1973, MERCK INDEX 1968, VON KREYBIG 1968) der wichtigsten Antihistaminika, die auf Teratogenität bzw. Embryotoxizität hin untersucht worden sind, sind in der Abbildung 1 zusammengestellt.

Die umfangreichsten Untersuchungen sind mit Meclozin sowie Norchlorcyclizin und Chlorcyclizin vorgenommen worden. Meclozin (syn. Meclizin) wird nach NARROD et al. (1965) in Norchlorcyclizin bei der Ratte metabolisiert - dieser Metabolit soll der eigentliche aktive teratogene Faktor sein. Meclozin induziert in der Organogenese der Ratte nach Tagesdosen von 75 - 100 mg/kgKörpergewicht bis zu 100 % Mißbildungen; nach Dosiserhöhung treten bis zu 100 % Resorptionen auf. Die beobachteten Mißbildungen wie Gaumenspalten, verzögerte Ossifikation und Mißbildungen innerer Organe werden auch durch andere chemische Substanzen induziert.

Tabelle 1

Zusammenstellung der wichtigsten Veröffentlichungen über eine tierexperimentelle Teratogenität von Antihistaminika.

TERATOGEN bzw. EMBRYOTOXISCH sind:		
Substanz	Tierart	Autoren
Meclizin	Sprague-Dawley-R.	KENDRICK & WEAVER 1963 KING 1963 POSNER & DARR 1967
	Osborne-Mendel-R.	KING 1963
Cyclizin	Sprague-Dawley-R.	KING et al. 1965 WILK et al. 197o
	Kaninchen,R.,M.	TUCHMANN-DUPLESSIS & MERCIER-PAROT 1963
Chlorcyclizin	Sprague-Dawley-R.	KING et al. 1965 WILK 1969 POSNER et al. 1967 POSNER & DARR 197o POSNER et al. 197o AUERBACH & BARROW 1972
	Frettchen	STEFFEK et al. 1968
	NIH-Albino-M.	KING & HOWELL 1966
	A/JAX-M.	KING & HOWELL 1966 WADDELL & WYNNE 1971
Norchlor-cyclizin	Sprague-Dawley-R.	KING et al. 1965 POSNER et al. 1967 WILK 1969 POSNER & DARR 197o WILK et al. 197o
Hydroxyzin	Sprague-Dawley-R.	KING & HOWELL 1966 POSNER & DARR 197o
Buclizin	Sprague-Dawley-R.	KING & HOWELL 1966 POSNER & DARR 197o
Diphenhydra-min	Swiss-Albino-M.	SHELESNYAK & DAVIES 1955
	Swiss-Webster-M.	NARANJO & NARANJO 1968
	CF 1-Albino-M.	IULIUCCI & GAUTIERI 1971
Chlorpheniramin	Swiss-Webster-M.	NARANJO & NARANJO 1968
Mepyramin	Swiss-Webster-M.	NARANJO & NARANJO 1968
Pyrrolazote	Swiss-Albino-R.	SHELESNYAK & DAVIES 1955
(M. = Mäuse, R. = Ratten)		

Tabelle 1 (Fortsetzung)

Zusammenstellung der wichtigsten Veröffentlichungen über eine tierexperimentelle Teratogenität von Antihistaminika.

ATERATOGEN bzw. NICHT-EMBRYOTOXISCH sind:		
Substanz	Tierart	Autoren
Diphen-hydramin	Sprague-Dawley-R.	KING et al. 1965 POSNER & DARR 1970 SCHARDEIN et al. 1971
	Dutch-belted-K.	SCHARDEIN et al. 1971
Methapyrilen	Sprague-Dawley-R.	KING et al. 1965 POSNER & DARR 1970
Chlorphenir-amin	Sprague-Dawley-R.	KING et al. 1965 POSNER & DARR 1970
Promethazin	Sprague-Dawley-R.	KING et al. 1965 POSNER & DARR 1970
Diphenyl-pyralin	Sprague-Dawley-R.	KING et al. 1965 POSNER & DARR 1970
Piprinhydrinat (Diphenyl-pyralin + ß-Chlortheophyllin	NMRI-M.	KNOCHE & KÖNIG 1964 PADBERG 1964
(K. = Kaninchen, M. = Mäuse, R. = Ratten)		

Abbildung 1
Chemische Strukturen einiger Antihistaminika, die Gegenstand teratologischer Versuche waren.

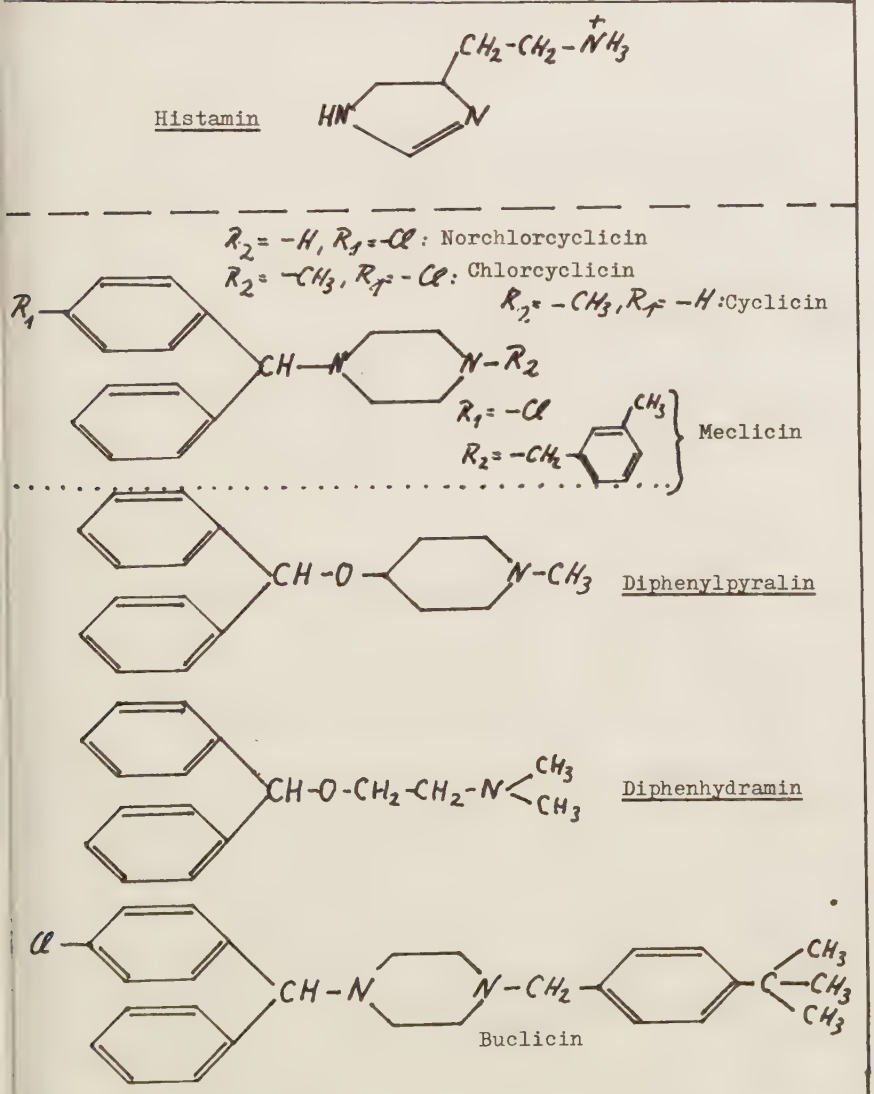
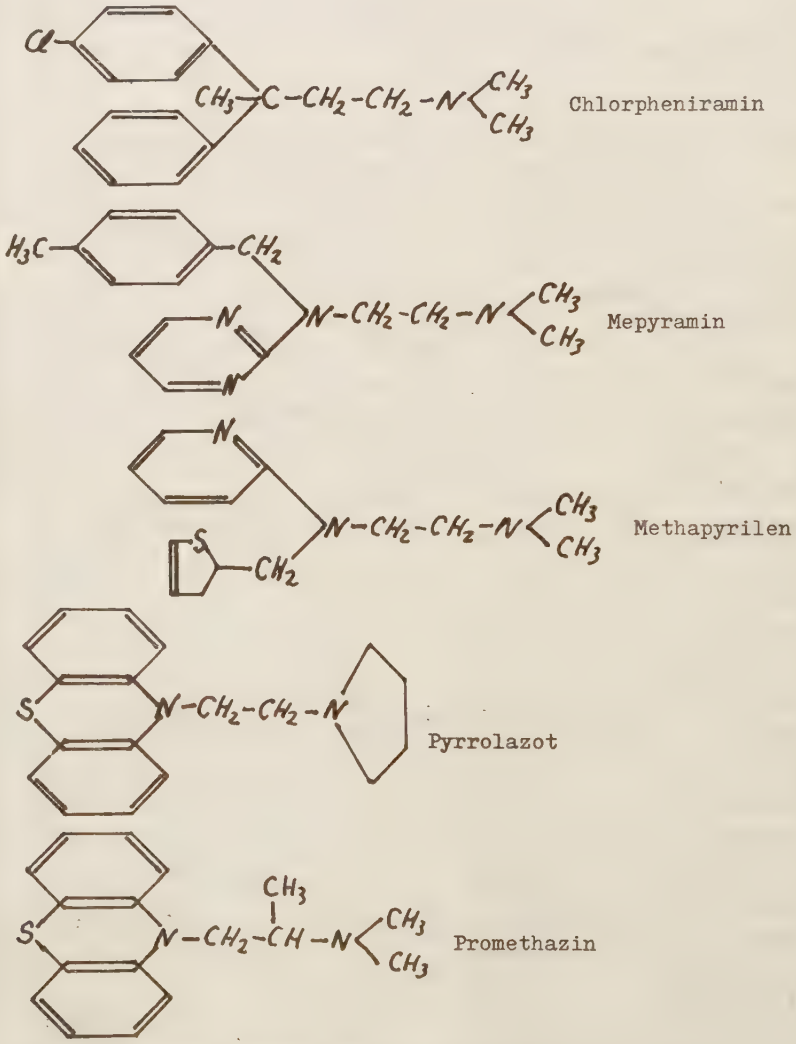


Abbildung 1 (Fortsetzung)
Chemische Strukturen einiger Antihistaminika, die Gegenstand teratologischer Versuche waren.



Ähnlich wie nach Meclizin weisen auch nach Norchlorcyclizin mit Tagesdosierungen von 125 mg/kg Körpergewicht die bei Ende der Trächtigkeit überlebenden Rattenfeten bis zu 100 % die oben genannten Mißbildungen auf. Chlorcyclizin scheint bei der Ratte noch stärker teratogen zu wirken, hier werden bereits mit 60 mg/kg Körpergewicht und Tag bis zu 100 % Mißbildungen beschrieben, während Resorptionen anscheinend nicht vermehrt auftreten. Für Chlorcyclizin wurde von KING (1965) festgestellt, daß eine bestimmte Dosis bei der Ratte in 6-tägiger Applikation zu 80 % Mißbildungen, in 15-tägiger Applikation jedoch weder Mißbildungen noch Resorptionen erzeugt. Vermutlich durch Induktion abbauender Enzyme in der mütterlichen Leber bleibt bei verlängerter Applikation das eigentliche teratogene Norchlorcyclizin im Embryo unter der teratogenen Schwellendosis (Interpretation nach WENDLER 1975).

Der eindeutig teratogenen Wirkung von Antihistaminika bei verschiedenen Tierarten steht das Fehlen einer teratogenen Wirkung der gleichen Substanzen in der menschlichen Schwangerschaft gegenüber. Die Ursachen für derartige Nichtübereinstimmung können einmal im Unterschied Tierschwangerschaft/menschliche Schwangerschaft sowie speziesspezifischen Stoffwechselunterschieden begründet sein, zum anderen natürlich auch in den unterschiedlichen Dosierungen. Die teratogenen Dosen im Tierexperiment betragen etwa das Hundertfache der menschlichen therapeutischen Dosis. Um die Übertragbarkeit der tierexperimentellen Teratogenitätsversuche auf den Menschen zu erleichtern, sind verschiedene Versuche zur Vereinheitli-

chung der Screening-Anweisungen (WENDLER 1975, LORKE 1975 u. a.) unternommen worden.

7. Untersuchungsergebnisse zur Teratogenität und Embryotoxizität von Diphenhydramin und Diphenylpyralin.

Im Gegensatz zu den relativ umfangreichen Untersuchungen über teratogene Wirkungen von Meclizin und seinen Metaboliten liegt über Diphenhydramin und Diphenylpyralin nur vergleichsweise wenig Material vor. Diese beiden Antihistaminika sind weniger in das Blickfeld teratologisch interessierter Epidemiologen geraten, weil sie vermutlich nicht so häufig als Antiemetika in der Gravidität Anwendung fanden. Bei finnischen Schwangeren will SAXEN (1974) im Gegensatz zu anderen Antihistaminika eine Korrelation zwischen Mißbildungen und Einnahme von Diphenhydramin festgestellt haben. Andererseits können NELSON & FORFAR (1971) an einem umfangreichen Kollektiv keine Zusammenhänge zwischen der Einnahme von Antihistaminika und Mißbildungen finden und schreiben:
"Antihistamines. - In the first trimester significantly fewer mothers of infants with all and minor abnormalities took antihistamines compared with controls. No individual antihistamin was associated with a difference. In order of frequency the most commonly consumed antihistamines were promethazine hydrochloride, d i p h e n h y d r a m i n e, triprolidine hydrochloride, meryramine maleate, d i p h e n y l p y r a l i n e, chlorpheniramine, chlorcyclizine, and trimeprazine."
Auch für die als Antiemetika gebrauchten Antihistaminika finden NELSON & FORFAR (1971) keine statistisch signifikanten Korrelationen zwischen Einnahme und Mißbildungen. In der Bun-

desrepublik werden sowohl Diphenhydramin wie auch Diphenylpyralin, einzeln wie kombiniert, in symptomatischen Grippemitteln und Hustenmitteln vielfach verwendet. Auch bei dieser Indikation (Rote Liste 1976) findet sich kein Warnhinweis für den Gebrauch in der menschlichen Schwangerschaft.

Bei gegen andere Antihistaminika sensiblen Sprague-Dawley-Ratten wurde im variierten Applikationsbereich zwischen Tag 1 und 15 postkoital mit Tagesdosen von 2,5 - 37,5 mg DPP (= Diphenylpyralin) pro Kilogramm Körpergewicht weder eine teratogene noch eine embryotoxische Wirkung beobachtet (KING et al. 1965, POSNER & DARR 1970). KNOCHE & KÖNIG (1964) sowie PADBERG (1964) haben Piprinhydrinat, eine Verbindung aus Diphenylpyralin mit Chlortheophyllin (= Diphenylpyralin-ß-chlortheophyllinat),ad libitum im Trinkwasser von NMRI-Mäusen von Tag 3 - 5 postkoital bis zur sectio an Tag 14 - 18 postkoital verabreicht. Die Tiere nahmen dabei Tagesmengen von ca. 3 - 4 mg/kg Körpergewicht bzw. ca. 12 mg/kg Körpergewicht auf. Bei diesem Versuch fanden sich im Gegensatz zu Versuchen mit Thalidomid und Coffein eine unveränderte Reproduktion der Mäuse und nur eine maximal um einen Tag verzögerte Entwicklung der Feten.

SHELESNYAK & DAVIES (1955) applizierten weiblichen Swiss-Albino-Mäusen nach Verpaarung 1 mg DPH (= Diphenhydramin) pro Tier und Tag subcutan und beobachtete eine signifikant herabgesetzte Schwangerschaftsrate bei den behandelten Tieren. NARANJO & NARANJO (1968) haben mit Konzentrationen von $1o^{-4}$ bis $1o^{-3}$ molar DPH im Trinkwasser Swiss-Webster-Mäuseweibchen

während der Gravidität behandelt und hierbei vermehrt embryonale Resorptionen, Aborte, Frühgeburten, reduzierte neonatale Maße sowie eine verstärkte postnatale Toxizität (speziell bei Einsatz von 10^{-3} M DPH) festgestellt. Nach IULIUCCI & GAUTIERI (1971) soll DPH bei CF 1-Albinomäusen coteratogen zu Morphin wirken.

Andererseits haben POSNER & DARR (1970, vgl. auch KING et al. 1965) an Sprague-Dawley-Ratten mit 300 mg/kg Körpergewicht und Tag weder Oedeme noch Gaumenspalten noch sonstige Mißbildungen beobachtet. SCHARDEIN et al. (1971) applizierten mit dem Futter Sprague-Dawley-Ratten sowie mit dem Trinkwasser Dutch-belted-Kaninchen DPH in Tagesdosen von ca. 3 - 4 mg/kg Körpergewicht bzw. von ca. 15 - 19 mg/kg Körpergewicht und fanden weder teratogene noch embryotoxische Wirkungen in beiden Tierspezies.

Sieht man von dem weder bestätigten noch widerlegten neueren Verdacht von SAXEN (1974) ab, so findet sich in klinisch-statistischen Untersuchungen kein Anhaltspunkt für eine Gefährdung der menschlichen Schwangerschaft durch die beiden Antihistaminika DPP und DPH. Die zahlenmäßig geringen Untersuchungen mit DPP an antihistamin-sensiblen Ratten haben keinen Verdacht auf Teratogenität ergeben. Nach Versuchen mit DPH an Mäusen ist eine Beeinträchtigung der Gravidität durch Embryotoxizität nicht ganz auszuschließen, jedoch waren Versuche mit Ratten und Kaninchen negativ.

Die vorliegende Untersuchung sollte daher mit unterschiedlicher Art der Applikation in einem Dosisbereich, der der

Anwendung beim Menschen nahekommt, sowie unter Verwendung osteometrischer Analysen des fetalen Skeletts den Einfluß von DPH und DFP einzeln und in Kombination auf die intrauterine Entwicklung von BD-Ratten feststellen.

4. Material und Methoden

4.1 Substanzen

Diphenhydramin (DPH), chemisch 2-Diphenylmethoxy-N,N-dimethyläthylamin (Formel Abb. 1), Molekulargewicht 255,35, wurde als das sehr gut wasserlösliche Hydrochlorid (DPH-HCl), Molekulargewicht 292, verwendet.
Diphenylpyralin (DPP), chemisch 4-Diphenylmethoxy-1-methylpiperidin (Formel Abb. 1), Molekulargewicht 281,38, wurde gleichfalls als gut wasserlösliches Hydrochlorid (DPP-HCl), Molekulargewicht 318, verwendet.
Beide Substanzen wurden mir freundlicherweise von der Med.-wissenschaftl. Abteilung der Firma Dr. Rentschler Arzneimittel, 7959 Laupheim, zur Verfügung gestellt.

4.2 Tiermaterial

Als Ausgangstiere wurden erstmals verpaarte Weibchen des Ratten-Inzuchtstammes BD IX verwendet, die mit fertilen Männchen des Inzuchtstammes BD X gekreuzt wurden. Die Tiere entstammen der Zucht des Sonderforschungsbereichs "Embryonal-Pharmakologie" an der Freien Universität Berlin, Pharmakologisches Institut.

4.3 Einteilung der Versuchsgruppen

Gruppe A - unbehandelte Muttertiere
Gruppe B - die Muttertiere erhielten für 72 Stunden zwi-

schen Tag 9 und 12 postkoital im Trinkwasser ad libitum eine o,oo1 molare Lösung von DPH-HCl

Gruppe C - wie vorstehende Tiere, jedoch Applikation einer o,oo1 molaren Lösung von DPP-HCl

Gruppe D - 7,5 mg DPH-HCl/kg Körpergewicht/d, i.p., an den Tagen 9 - 12 postkoital

Gruppe E - in zwei Versuchsreihen (Ea und Eb) erhielten die Muttertiere (wie vorstehend) DPP-HCl

Gruppe F - 15 mg DPP-HCl/kg/d, i.p., an den Tagen 9 - 12 postkoital

Gruppe G - 7,5 mg DPH-HCl + 7,5 mg DPP-HCl/kg/d, i.p., an den Tagen 9 - 12 postkoital.

Die Applikation der intraperitonealen Injektionen (jeweils in 1 ml Aq. bidest.) sowie der Austausch der als Trinkwasser dienenden Lösungen in den Gruppen B und C erfolgte jeweils zwischen 11 und 12 Uhr vormittags.

Berechnung der Tagesdosen in B und C: Der tägliche Trinkwasserverbrauch lag bei ca. 25 ml, die gleiche Menge wurde auch von den Versuchstieren aufgenommen. Aus der Formel

$$\frac{\text{Molekulargewicht (mg)}}{\text{1ooo ml}} \times 25\ (\text{ml/d}) = \text{Tagesdosis (mg/d)}$$

werden berechnet: B ca. 7,5 mg/d/Tier

C ca. 8 mg/d/Tier

Unter Berücksichtigung eines durchschnittlichen Körpergewichtes von 2oo g ergeben sich

für B ca. 38 mg/kg/d DPH-HCl

für C ca. 4o mg/kg/d DPP-HCl.

Die LD_{50} für DPH-HCl beträgt bei der Ratte (oral) 5oo mg pro kg (MERCK INDEX 1968), für die weiße Maus 16o (oral)

bzw. 7o (i.p.) mg/kg (HAUSCHILD 196o). Nach intraperitonealer Injektion von 15o mg DPP-HCl/kg sterben trächtige Ratten innerhalb einer Viertelstunde.

4.4 Zucht und Haltung der Versuchstiere

Die Haltung der Tiere erfolgte bei einer Zuchtraumtemperatur von 22°C und einer Luftfeuchte von 5o - 6o% in einem veränderten Hell-Dunkel-Rhytmus (Lichtperiode 12 Uhr mittags bis 4 Uhr morgens). Die Tiere hatten freien Zugang zu Altromin R-Futter und Trinkwasser.
Verpaarung: ein fertiles Männchen wurde morgens zwischen 8 und 1o Uhr für zwei Stunden zu je zwei Weibchen gesetzt. Anschließend wurden Vaginalabstriche angefertigt und auf das Vorhandensein von Spermatozoen untersucht - bei positivem Befund tritt zu etwa 8o% eine Trächtigkeit ein. Der Tag des positiven Spermiennachweises wird als Tag Null postkoital (d 0 p.c.) bezeichnet.
Die Muttertiere wurden während der Substanzapplikation an den Tagen 9 - 12 p.c. jeweils täglich gewogen sowie erneut an d 21 p.c. - an diesem Tag wurden die Tiere mit Aether getötet und die Feten per sectionem entnommen.

4.5 Herstellung der fetalen Skelettpräparate

Während der Entnahme der Feten an d 21 p.c. wurden die Feten gewogen, der Anteil lebender und toter Feten sowie

der Resorptionen und Implantationsstellen bestimmt. Besonderheiten des Situs wurden protokolliert. Die Feten wurden auf makroskopisch sichtbare Fehlbildungen untersucht.

Zur genauen Bestimmung der Ossifikation sowie für die Ausmessung bestimmter Skelettelemente wurden die Feten zunächst 14 Tage in 1o%iger Formalinlösung fixiert. Danach wurden Haut, Augen, subkutanes Fettgewebe und sämtliche Eingeweide vorsichtig entfernt. Das Restpräparat wurde dann für ca. eine Stunde in destilliertem Wasser gewaschen und dann für 12 Stunden in Aceton verbracht, das nach den ersten 2o Minuten einmal gewechselt wurde.

Die Aufhellung und Anfärbung der Präparate erfolgte in Anlehnung an JENSH & BRENT (1966) durch 6 - 8tägiges Behandeln der Feten mit 1o%iger KOH, in der 6 mg Alizarin/l gelöst waren. Jeweils bei Braunfärbung wurde die Lösung erneuert. In den letzten beiden Tagen der Färbeprozedur wurde die 1o%ige durch eine einprozentige KOH ersetzt. Nach Überführung der aufgehellten und angefärbten Feten in ein 1:2:2-Gemisch aus Benzylalkohol, Äthanol und Glycerin für 12 Stunden wurden die Skelettpräparate bis zur Messung bzw. Inspektion in Glycerin aufbewahrt.

In diesen Präparaten ist der verkalkende fetale Knochen hellrot angefärbt und hebt sich scharf gegenüber dem fast farblosen Bindegewebe ab, welches die Skelettelemente in ihrer ursprünglichen Zuordnung erhält (vgl. Abb. A 1 und A 2 im Tafelanhang).

4.6 Untersuchung des fetalen Skeletts

Länge und Breite des Os interparietale, sowie die größten Längsdistanzen der Extremitätenknochen (Humerus, Radius, Ulna, Femur, Tibia, Fibula) wurden direkt mittels ZEISS-Meßokular ausgemessen, wobei zur Messung konstant eine zehnfache Vergrößerung (1o Skalenteile = 1 mm) eingestellt war. Dieses Verfahren hat sich bei mehreren anderen Untersuchungen (z.B. BANGEL, E. 1976, MICHELS, G. 1976, ROETZ & MICHELS 1976) bewährt, obgleich bereits neuere automatische Verfahren entwickelt worden sind.
Bei der Inspektion des fetalen Skeletts wurde das Vorhandensein bzw. Fehlen von Ossa coxae, Clavicula, Scapula notiert. Die Zahl der Rippen und der Wirbelkörper (in den einzelnen Abschnitten), die der Ossifikationspunkte des Sternums sowie die der Metatarsalia, Metacarpalia, die der Ossifikationspunkte in Fingern und Zehen (mit ihrer Verteilung auf die einzelnen Strahlen) wurde festgestellt.

4.7 Histologische Untersuchungen

Einige Resorptionen sowie Gewebematerial aus den Feten wurde für die Routine-Histologie bearbeitet. Acht Abbildungen sind im Tafelanhang wiedergegeben (A 3 bis A 10).

4.8 Statistische Analysen.

Die Signifikanzberechnungen erfolgten nach dem t-Test für die Mittelwertsvergleiche, da die Verteilung der Knochenlängen der GAUSS-Verteilung folgt (ROETZ & MICHELS 1976). Als Signi-

gelten die Werte als eindeutig retardiert, deren Zahlenwert kleiner ist als der Wert von 3,80 g. Dieser Zahlenwert berechnet sich aus Mittelwert der Lebendgewichte unbehandelter Feten (4,67 g) minus dreifachem Wert der Streuung der Einzelwerte (3 x 0,29 g = 0,87 g). Bei Annahme einer Normalverteilung der Fetalgewichte sind in den Bereich $M \pm 3\ s$ 99,73 % aller Einzelwerte einbezogen. Das Risiko, einen aus diesem Bereich herausragenden Wert als irrtümlich nicht normal einzuschätzen ist also gering. Die Bezeichnung "retardiert" für den Zahlenwert Fetalgewicht wird durch die vorgegebene Prozedur exakt abgegrenzt und sollte auch Vergleiche mit anderen Substanzen möglich machen.

In den Tabellen, die die Ergebnisse zusammenfassen, sind als $M \pm s$ stets die Mittelwerte $\pm$ Streuung der Einzelwerte angegeben. Die auf die Signifikanzschwelle $P < 0{,}01$ bezogenen Ergebnisse sind in der Tabelle 7 zusammengestellt. Hier sind nur "+" bzw. "-" für $P < 0{,}01$ bzw. $P > 0{,}01$ notiert. Die Zahlenwerte für t_f lassen sich jedoch leicht aus der Angabe $M \pm s$ unter Berücksichtigung der Zahl für n berechnen (z. B. nach Cavalli-Sforza 1964)

Vergleich von A und B, gegeben $M_A \pm s_A$, n_A

gegeben $M_B \pm s_B$, n_B

$$t_{(n_A + n_B - 2)} = \frac{(M_A - M_B) \times \sqrt{\frac{n_A \times n_B}{n_A + n_B}}}{\sqrt{\frac{s_A \times (n_A - 1) + s_B \times (n_B - 1)}{(n_A + n_B - 2)}}}$$

Die entsprechenden t-Werte müssen geeigneten Tabellen (z. B. CAVALLI - SFORZA 1964) entnommen werden. Die Berechnungen wurden mit dem Taschenrechner SR-51-II (TEXAS INSTRUMENTS) durchgeführt.

5. Ergebnisse der Versuche

In Tabelle 2 sind Geburtsgewicht der lebenden Feten, Anzahl der toten Feten, Zahl der Resorptionen usw. am 21. Tag post conceptionem zusammengefaßt. In Abbildung 2 sind die mittleren Fetalgewichte dargestellt. Die Tabellen 3 und 4 enthalten die osteometrischen Daten des Fetalskeletts nach Einwirkung von DPP und DPH in der Organogenese (graphische Darstellung vgl. Abbildung 3). In den Tabellen 5 und 6 sind die Ossifikationsverhältnisse (vgl. auch Abbildung 4) unter dem Einfluß der beiden Versuchssubstanzen dargestellt. Tabelle 7 gibt die Ergebnisse der statistischen Analysen wieder.

Im Folgenden sollen nur kurz einige Bemerkungen zu den einzelnen Versuchsgruppen gemacht werden. In der Gruppe A betrug das Gewicht der 17 mütterlichen Tiere am 21. Schwangerschaftstag im Durchschnitt 281 ± 20 g. In 17 Würfen mit 151 überlebenden Feten wurden zusätzlich 2 Resorptionen (in 2 der 17 Würfe) beobachtet, makroskopisch sichtbare fetale Anomalien konnten nicht festgestellt werden. In Gruppe B betrug das mütterliche Gewicht im Mittel 263 ± 21 g. Die 6 Würfe und der Zustand der mütterlichen Tiere boten keinerlei Besonderheiten. In der Gruppe C mit einem mittleren Gewicht der Muttertiere von 249 ± 19 g fiel ein Wurf (5 Würfe) mit auffallend kleinen Tieren auf, die jedoch alle lebten. Das mittlere Fetalgewicht für diese 10 Feten betrug 1,92 ± 0,12 g und ist im Vergleich zu allen 42 Feten dieser Gruppe (3,62 ± 1,01 g) deutlich unterschieden (hierdurch wird auch die auffallende Streuung der

Einzelwerte von ± 1,01 erklärt). Die Ursachen für diesen abweichenden Einzelwurf sind unbekannt. Das Durchschnittsgewicht der Muttertiere der Gruppe D betrug 258 ± 13 g. In 5 Würfen mit 38 lebenden Feten wurde eine Resorption gesehen (in dem betreffenden Wurf neben 7 normalen Feten). Die auffallendsten Veränderungen traten in der Gruppe E auf. In der ersten Untergruppe (Ea) wurden unter 7,5 mg/kg Körpergewicht und Tag DPP-HCl neben nur 13 lebenden Feten 45 untereinander gleich große Resorptionen gesehen, die auf 7 Würfe wie folgt verteilt waren (Resorptionen/lebende Feten): 4/0, 0/9, 9/0, 10/0, 4/1, 10/1, 8/2. Wie die Skelettanalysen zeigten, waren die überlebenden Feten normal groß und normal entwickelt. Eine Wiederholung des Versuchs (Eb) ergab überraschend neben 32 lebenden Feten nur 2 Resorptionen in 2 von 5 Würfen (dafür waren die überlebenden Feten jedoch in Wachstum und Entwicklung deutlich retardiert und zeigten zusätzliche Abberationen). Die mütterlichen Durchschnittsgewichte waren mit 234 ± 21 g (Ea) bzw. 245 ± 18 g nicht signifikant zu unterscheiden. Für die Dosisvergleiche wurden beide anscheinend so stark differierenden Gruppen zusammengefaßt und als Gruppe E bezeichnet. Die Berechtigung dieses Verfahrens wird im Abschnitt Diskussion begründet. Gruppe F mit einem mütterlichen Durchschnittsgewicht von 284 ± 20 g zeigte in 7 Würfen mit 61 lebenden Feten keinerlei Besonderheiten. Auffallend waren auch die Resultate in Gruppe G (12 Würfe, mütterliches Durchschnittsgewicht 228 ± 22g). Neben 79 lebenden Feten wurden 5 tote Feten (von denen 3 in die Osteometrie usw. einbezogen werden konnten) gefunden.

In 5 Würfen wurden 19 Resorptionen (= 24 %) mit einer Verteilung (Resorption/lebende Feten) von 1/6, 2/5, 3/4, 6/5 und 7/2 festgestellt, die makroskopisch denen der E-Gruppe glichen. Daneben fanden sich 5 tote Embryonen. Nur in dieser Gruppe wurden makroskopisch sichtbare Anomalien beobachtet: 4 der 79 lebenden Feten (= 5 %) hatten Fußstellungsanomalien (je 2 Tiere in 2 Würfen), wobei einmal beide Füße und dreimal der linke Fuß nach hinten abgeknickt waren.
Einige Feten wurden histologisch untersucht (vgl. dazu die Abbildungen im Tafelanhang). Sowohl die mit DPP als auch die mit DPH behandelten Feten zeigten dabei keine histologisch faßbaren Veränderungen. Die Organschnitte waren von denen aus der Kontrollgruppe nicht zu unterscheiden. Die bereits in Größe und Form einheitlichen Resorptionen bestanden aus einer ungegliederten und nicht differenzierten Zellmasse.

Tabelle 2

Einfluß der Antihistaminika Diphenhydramin und Diphenylpyralin auf das Körpergewicht von BD-Rattenfeten (Sectio d 21 p.c.)

Gruppe	Wurf-zahl	lebende Feten	tote Feten	Resorptionen	Lebendgewicht (g)
	n	n n/Wurf	n n/Wurf	n n/Wurf % leb. Feten	M ± s (min./max.) <3,8o g /n,%/
A	17	151 8,9	- -	2 o,1 1,3	4,67±o,29 (3,93/5,28) -/-
B	6	39 6,5	- -	- - -	4,75±o,25 (4,29/5,36) -/-
C	5	42 8,4	- -	- - -	3,62±1,o1 (1,72/4,77) 14/33,3%
D	5	38 7,6	- -	1 o,2 2,6	4,94±o.38 (3,6o/5,58) 1/2,6%
Ea	7	13 1,9	- -	45 6,4 346	4,76±o,77 (3,o9/5,73) 1/7,7%
Eb	5	32 6,4	- -	2 o,4 6,3	3,33±o,47 (1,93±4,34) 16/5o,o%
E	12	45 3,8	- -	47 3,9 1o4	3,74±o,56 (1,93/5,73) 17/37,8%
F	7	61 8,7	- -	- - -	4,92±o,38 (3,77/5,6o) 1/1,6%
G	12	79 6,6	5 o,4	19 1,6 24,1	4,95±o,35 (4,o6/5,68) -/-

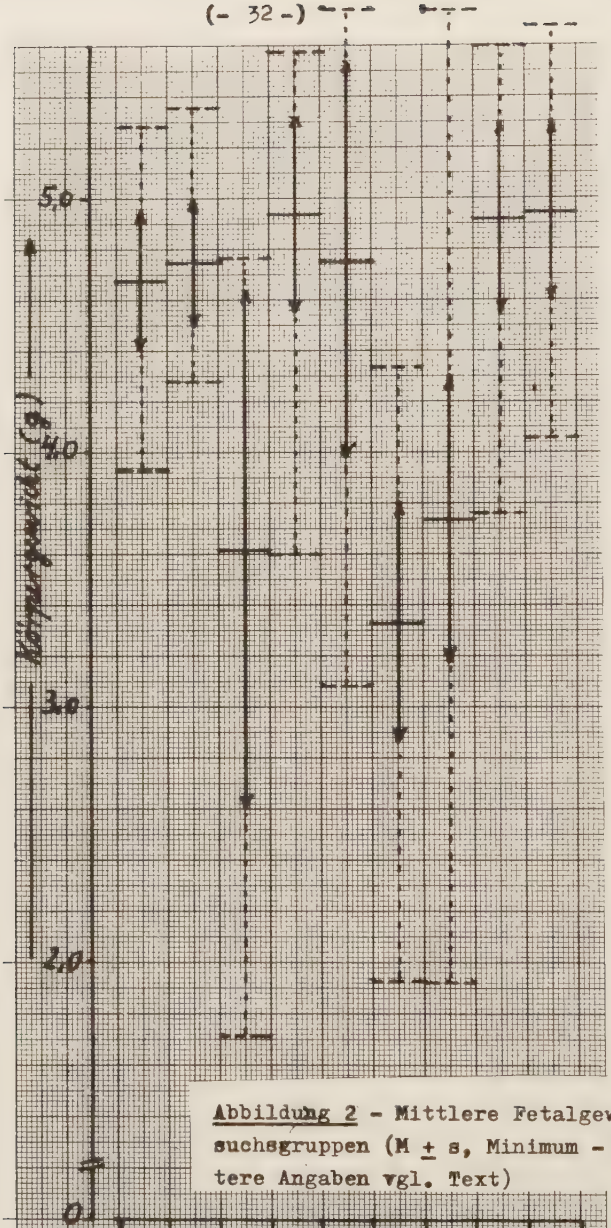


Abbildung 2 - Mittlere Fetalgewichte der Versuchsgruppen (M ± s, Minimum - Maximum; weitere Angaben vgl. Text)

	A	B	C	D	E_a	E_b	E	F	G
DPH	0	+	0	+	0	0	0	0	+
DPP	0	0	+	0	+	+	+	+	+

Tabelle 3

Morphometrische Daten nach Behandlung mit Diphenhydramin

Skelettelement	Versuchsgruppe			
	A	B	D	G
Os interparietale				
Länge	2,44±o,17	2,18±o,22	2,29±o,15	2,37±o,15
Breite	5,87±o,22	5,81±o,25	5,84±o,16	5,76±o,2o
Humerus	3,29±o,o9	3,13±o,16	3,21±o,14	3,13±o,15
Radius	2,67±o,11	2,5o±o,21	2,63±o,25	2,59±o,15
Ulna	3,66±o,13	3,38±o,15	3,43±o,16	3,41±o,15
Femur	2,71±o,12	2,51±o,14	2,48±o,19	2,46±o,13
Tibia	3,o5±o,13	2,92±o,19	2,89±o,18	2,96±o,13
Fibula	2,98±o,13	2,73±o,15	2,78±o,19	2,86±o,17
Anzahl der ausgemessenen Feten	151	39	38	61

Bemerkungen:

Versuchsgruppe A: unbehandelte Kontrollen (BD-Ratten)

Versuchsgruppe B: d 9 - 12 p.c. ad libitum im Trinkwasser o,oo1 M Diphenhydramin

Versuchsgruppe D: d 9 - 12 p.c. 7,5 mg Diphenhydramin/kg KG pro Tag i.p.

Versuchsgruppe G: zusätzlich zu D je 7,5 mg Diphenylpyralin/kg KG/d i.p.

Zahlenwerte in der Tabelle = Mittelwert ± Streuung der Einzelwerte; Angaben in Millimeter.

Tabelle 4

Morphometrische Daten nach Behandlung mit Diphenylpyralin

Skelettelement	Versuchsgruppe				
	A	C	Ea	Eb	F
Os interparietale					
Länge	2,44±o,17	1,9o±o,45	2,32±o,19	1,86±o,18	2,27±o,18
Breite	5,87±o,12	5,28±o,65	5,83±o,31	5,31±o,19	5,84±o,24
Humerus	3,29±o,o9	2,71±o,52	3,13±o,24	2,43±o,3o	3,27±o,26
Radius	2,67±o,11	2,17±o,44	2,71±o,36	2,17±o,18	2,73±o,19
Ulna	3,66±o,13	2,92±o,7o	3,49±o,29	2,82±o,26	3,51±o,2o
Femur	2,71±o,12	2,13±o,56	2,51±o,24	2,37±o,6o	2,55±o,18
Tibia	3,o5±o,13	2,5o±o,71	3,o1±o,33	2,24±o,19	3,oo±o,18
Fibula	2,98±o,13	2,35±o,67	2,84±o,3o	2,o9±o,18	2,86±o,17
Anzahl der ausgemessenen Feten	151	42	13	32	61

Bemerkungen:

Versuchsgruppe A: unbehandelte Kontrollen (BD-Ratten)

Versuchsgruppe C: d 9 - 12 p.c. ad libitum im Trinkwasser o,oo1 M Diphenylpyralin

Versuchsgruppe Ea: d 9 - 12 p.c. 7,5 mg Diphenylpyralin/kg KG pro Tag i.p. (lebende Feten d 21 p.c.)

Versuchsgruppe Eb: wie vorige

Versuchsgruppe F: d 9 - 12 p.c. 15 mg Diphenylpyralin/kg KG pro Tag i.p.

Zahlenwerte in der Tabelle: Mittelwert ± Streuung der Einzelwerte; Angaben in Millimeter.

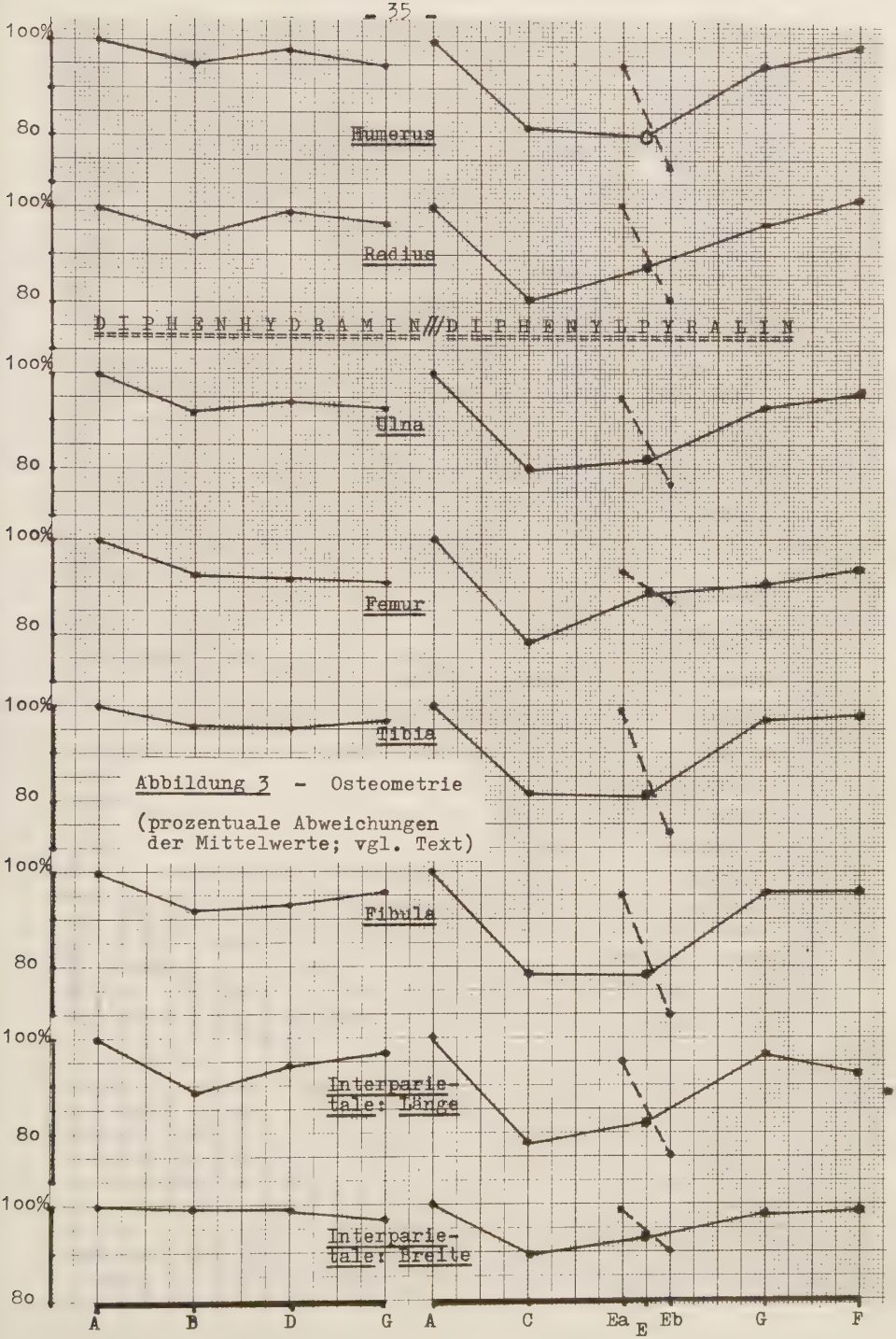


Abbildung 3 - Osteometrie

(prozentuale Abweichungen der Mittelwerte; vgl. Text)

Tabelle 5

Einfluß von Diphenhydramin auf die Ossifikation von BD-Rattenfeten (Ossifikationspunkte - OP - bzw. Anzahl der Knochen; weitere Angaben vgl. Tabelle 3)

Skelettelement	Versuchsgruppe			
	A	B	D	G
Finger (OP)	16,9±1,o	16,8±1,9	17,3±1,4	17,2±1,o
Metacarpalia(OP)	6,o	6,o	6,o	6,o
Zehen (OP)	1o,1±o,5	9,7±1,6	11,4±2,6	1o,o±o,o
Metatarsal.(OP)	8	8	8	8
Ossa coxae (OP)	4	4	4	4
Clavicvlae	2	2	2	2
Scapulae	2	2	2	2
Costae	26,o±o,o	26,o±o,o	25,9±o,5	26,o±o,o
Sternum (OP)	5,9±o,3	6,o±o,o	5,9±o,4	6,o±o,o
Vertebrae				
cervicales	7	7	7	7
dorsales	13,o±o,o	13,o±o,o	13,o±o,2	13,o±o,o
lumbales	6	6	6	6
sacrales	4	4	4	4
caudales	4,7±o,5	4,3±o,7	5,o±o,4	4,5±o,6
Anzahl der inspizierten Fet.	151	39	38	82

Tabelle 6

Einfluß von Diphenylpyralin auf die Ossifikation von BD-Rattenfeten (Ossifikationspunkte - OP - bzw. Anzahl der Knochen; weitere Angaben vgl. Tabelle 4)

Skelettelement	Versuchsgruppe				
	A	C	Ea	Eb	F
Finger (OP)	16,9±1,o	12,6±7.2	17,4±2,1	9,8±1,8	17,3±2,1
Metacarpalia (OP)	6,o±o,o	5,2±1,2	6,o±o,o	6,o±o,2	6,o±o,o
Zehen (OP)	1o,1±o,5	7,6±4,3	12,o±3,5	8,3±3,6	15,2±4,5
Metatarsalia (OP)	8,o±o,o	6,9±2,o	8,o±o,o	7,8±o,8	8,o±o,o
Ossa coxae (OP)	4,o±o,o	3,9±o,5	4,o±o,o	4,o±o,o	4,o±o,o
Claviculae	2	2	2	2	2
Scapulae	2	2	2	2	2
Costae	26	26	26	26	26
Sternum (OP)	5,9±o,3	4,7±2,4	6,o±o,o	5,2±o,6	6,o±o,1
Vertebrae					
cervicales	7	7	7	7	7
dorsales	13	13	13	13	13
lumbales	6	6	6	6	6
sacrales	4,o±o,o	3,6±o,8	4,o±o,o	4,o±o,o	4,o±o,o
caudales	4,7±o,5	3,2±1,9	5,2±o,7	2,8±o,7	4,9±o,6
Anzahl der inspizierten Feten	151	42	13	32	61

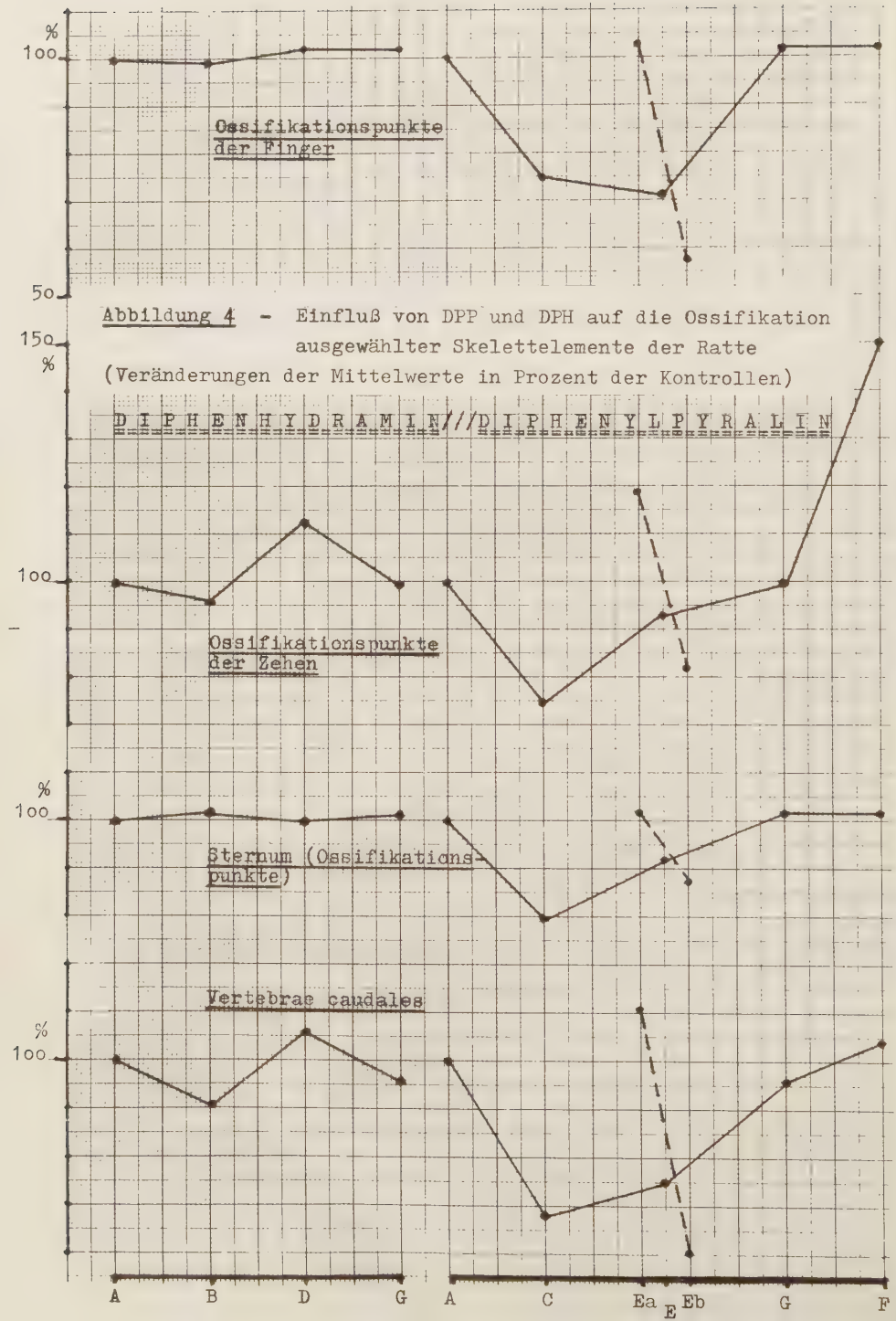


Abbildung 4 - Einfluß von DPP und DPH auf die Ossifikation ausgewählter Skelettelemente der Ratte
(Veränderungen der Mittelwerte in Prozent der Kontrollen)

Tabelle 7

Zusammenfassung der Ergebnisse der statistischen Mittelwertsvergleiche.

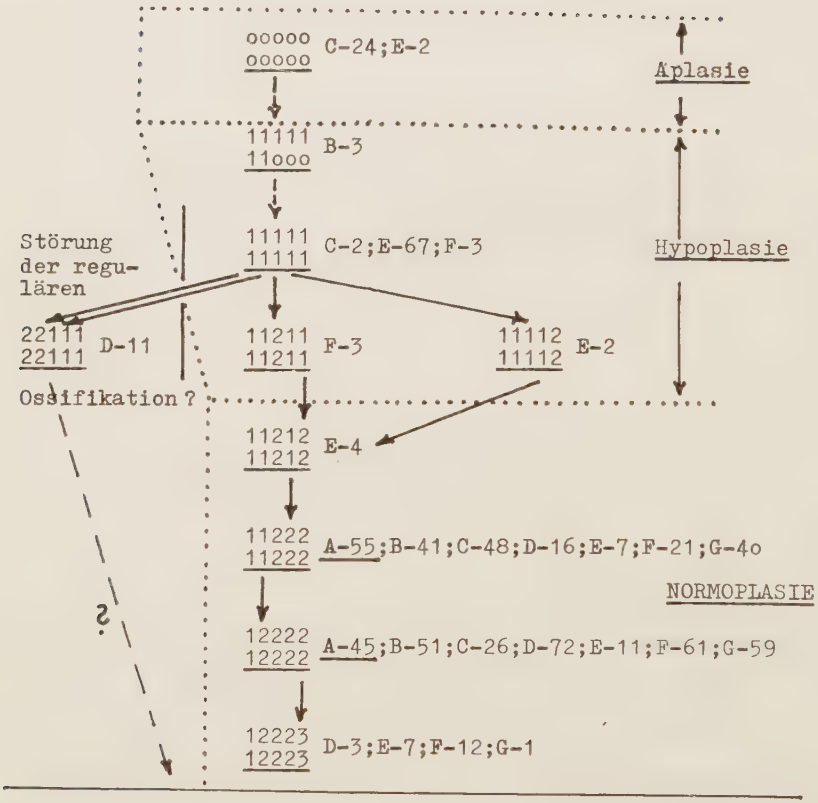
Vorgegebene Signifikanzschwelle $P < 0{,}01$; + $\triangleq$ $P < 0{,}01$, - $\triangleq$ $P > 0{,}01$.

Geprüfte Mittelwerte	Vergleiche					
	A/B	A/C	A/D	A/E	A/F	A/G
Os interpar.						
Länge	+	+	+	+	+	+
Breite	-	+	-	+	-	+
Humerus	+	+	-	+	-	+
Radius	+	+	-	+	+	+
Ulna	+	+	+	+	+	+
Femur	+	+	+	+	+	+
Tibia	+	+	+	+	-	+
Fibula	+	+	+	+	+	+
Körpergewicht	-	+	+	+	+	+
Finger	-	+	-	+	-	-
Zehen	+	+	+	-	+	-
Metatarsalia	+	-	-	-	-	-
Sternum	-	+	-	+	-	-
Vertebrae caudales	+	+	+	+	-	+

(E wurde durch Zusammenfassung von Ea und Eb berechnet)

Abbildung 5

Ossifikation der Fingerknochen



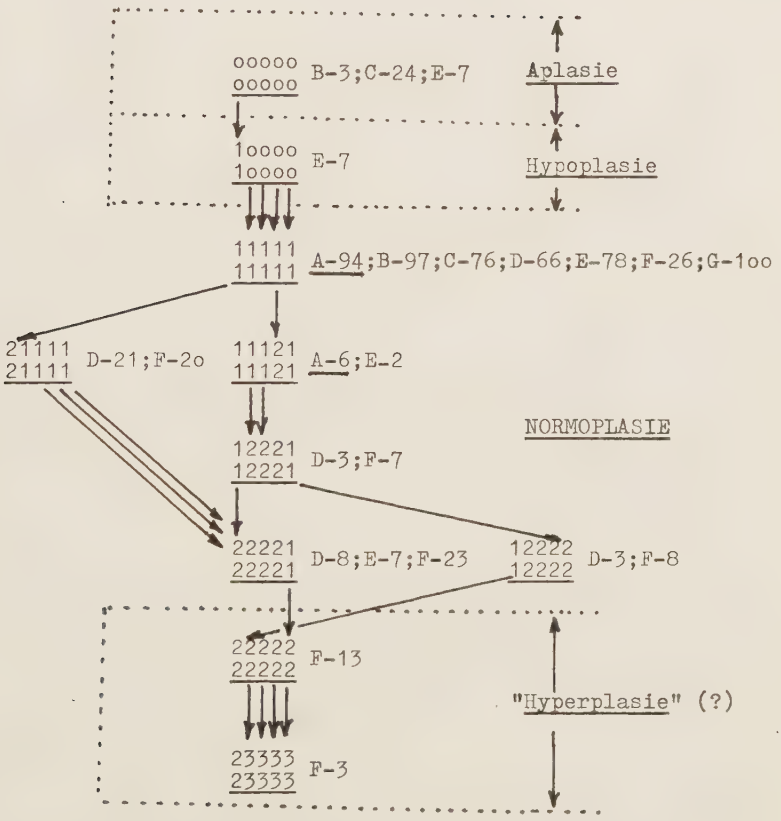
Erläuterungen: Anzahl der Ossifikationspunkte (o,1,2,3);

rechts 1.2.3.4.5.
links 1.2.3.4.5. Strahl

A-G: Versuchsgruppen, durch Bindestrich neben der Versuchsgruppenbezeichnung die Häufigkeit des betreffenden Ossifikationsmusters (%).

Abbildung 6

Ossifikation der Zehenknochen



Erläuterungen vgl. Abbildung 5 und Text.

Abbildung 7

Ossifikation des Sternums (prozentuale Häufigkeiten)

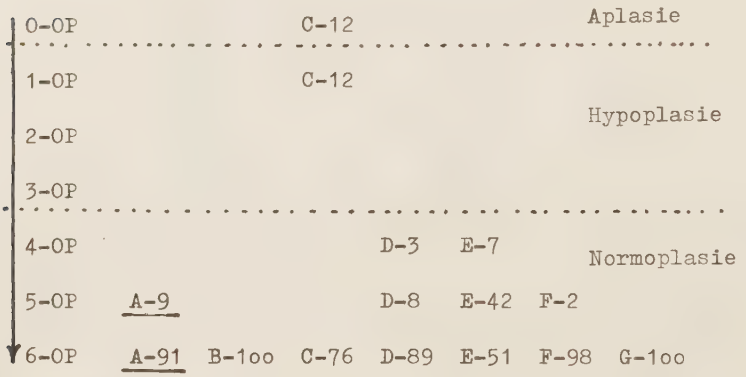
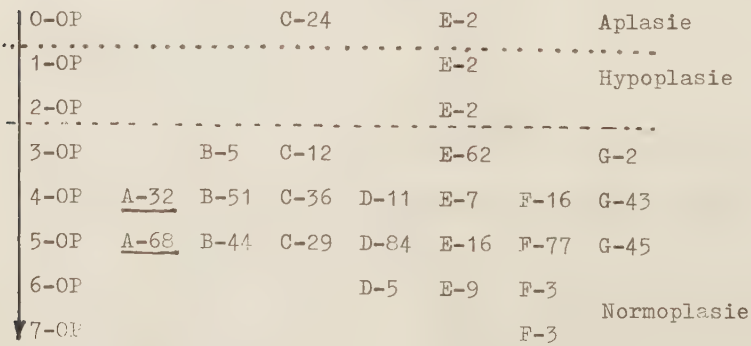


Abbildung 8

Ossifikation der Vertebrae caudales (prozentuale Häufigkeiten in den einzelnen Versuchsgruppen)



6. Diskussion der Ergebnisse

6. 1 Wirkungen des Diphenhydramin auf die intrauterine Entwicklung von BD-Ratten.

Weder nach 7,5 mg DPH/kg Körpergewicht und Tag i. p. noch nach innerhalb 24 Stunden im Trinkwasser verteilten ca. 38 mg/kg Körpergewicht wird eine Abnahme der mittleren Fetalgewichte beobachtet. Kümmerformen und Resorptionen treten nicht auf. Die hier geprüften Dosierungen und Applikationen in der Phase der Organogenese der Ratte haben keinen embryotoxischen oder das Gesamtwachstum retardierenden Effekt. In den Skelettpräparaten ist die Länge der Extremitätenröhrenknochen sehr gleichmäßig um 5 - 8 % verkürzt, wobei allerdings zwischen den beiden verschieden hohen Dosierungen keine einheitliche Wirkungsrichtung existiert. Die geringfügige Verzögerung des Knochenwachstums ist also vermutlich ein unspezifischer Effekt. Ähnliches gilt für die Ossifikationen, wie auch die Abbildungen 4 - 8 zeigen. Nur nach 7,5 mg DPH/kg Körpergewicht und Tag i.p. treten an Fingern und Zehen veränderte Knochenkernanordnungen auf, die bei den Fingerknochen vermutlich eine Musterabweichung darstellen, die bei 11 % der Tiere vorkommt. Da jedoch quasi als "Momentaufnahme" nur Untersuchungen am 21. Entwicklungstag zur Verfügung stehen, kann der pathologische Wert dieser Abweichung nicht abgeschätzt werden. Eine spätere Angleichung an die peri- und postnatal weiter fortschreitende normale Ossifikation ist nicht ausgeschlossen.

Insgesamt jedoch kann aus diesen Versuchen weder eine embryotoxische noch eine teratogene Wirkung des Diphenhydramin abgeleitet werden. Die von KING et al. (1965), POSNER & DARR (1970) sowie von SCHARDEIN et al. (1971) gefundene Ateratogenität von Diphenhydramin am Skelett von Sprague-Dawley-Ratten wird hier für BD-Ratten bestätigt.

6. 2 Wirkungen von Diphenylpyralin auf die intrauterine Entwicklung von BD-Ratten.

Nach KING et al. (1965) sowie POSNER & DARR (1970) ist auch DPP bei Ratten ateratogen und nicht-embryotoxisch. Diese Befunde an Sprague-Dawley-Ratten stehen im Gegensatz zu den vorliegenden Ergebnissen.
Nach einmal täglicher intraperitonealer Injektion von 7,5 mg DPP/kg Körpergewicht an den Tagen 9 - 12 der intrauterinen Entwicklung sterben etwa 50 % aller Feten in etwa gleicher, aus dem Zustand der Resorption nicht mehr bestimmbarer Entwicklungsalter ab. Die Resorptionen (Abbildung A 7) zeigen ein uniformes histologisches Bild: in einer undifferenzierten Gewebe mit zahlreichen unregelmäßigen Zellen fällt nur die starke Vaskularisation (Resorption) auf. Die überlebenden Embryonen sind relativ normal entwickelt, wenn auch in Knochenwachstum und Ossifikation leicht reduziert (Abbildung A 2), teilweise jedoch auch stark retardiert und nach der Zustand an Tag 21 nicht lebensfähig. Das mittlere Fetalgewicht aller überlebenden Feten ist mit 3,74 g um ca. 20 % verkleinert und etwa 38 % aller überlebenden Feten sind als echte Körper-

formen klar abgegrenzt. Sämtliche ausgemessenen Knochenlängen (Tabelle 4), am geringsten die Breite des Os interparietale, sind um 10 - 20 % verkürzt. Die Ossifikation der bei Behandlungsbeginn noch direkt beeinflußbaren Skelettelemente (Vertebrae caudales, Sternum, Phalangen von Fingern und Zehen, s. Tabelle 6) ist eindeutig verzögert. So sind die Vertebrae caudales bei 2 % der Tiere nicht und bei weiteren 4 % nur stark verringert angelegt. Eine verzögerte Ossifikation der Finger und Zehen sowie ein vollständiges Fehlen von Knochenkernen findet sich ebenfalls in dieser Gruppe.
Die Applikation von ca. 40 mg DPP/kg Körpergewicht und Tag in Form einer 0,001 molaren Lösung im Trinkwasser führt zu ähnlichen Veränderungen. Das durchschnittliche Gewicht der lebenden Feten ist mit 3,62 g stärker als 20 % reduziert. Etwa 1/3 der überlebenden Tiere sind Kümmerformen unter 3,80 g. Resorptionen treten in dieser Versuchsgruppe nicht auf.
Während bei intraperitonealer täglicher Applikation einer geringeren DPP-Dosis an den Tagen 9 - 12 postkoital eine starke Embryotoxizität hervortritt, fällt bei über den Tag verteilter oraler Applikation einer ca. 5fach höheren DPP-Dosis eine starke Störung der Ossifikation bis hin zu echten teratogenen Effekten auf. Nur in dieser Versuchsgruppe werden Störungen der Ossifikation der Vertebrae sacrales, der Metacarpalia und der Metatarsalia gefunden. Aplasien des Finger- und Zehenskeletts weisen 24 % der Tiere auf. Bei einem gleichen Prozentsatz der Feten fehlen die Vertebrae caudales und 12 % der Feten zeigen Sternalaplasien (Abbildungen 5 - 8). In diesen

beiden Dosierungen - 7,5 mg/kg Körpergewicht/Tag i. p. und ca. 40 mg/kg Körpergewicht/Tag im Trinkwasser - hat DPP eine eindeutig embryotoxische, das Wachstum und die Ossifikation verzögernde sowie teratogene Wirkung, ähnlich wie sie für Sprague-Dawley-Ratten bekannt sind.

In auffallendem Gegensatz hierzu stehen die Versuchstiere der Grupre F, die je 15 mg DPP/kg Körpergewicht/Tag i. p. an den Tagen 9 - 12 postkoital erhielten. Das mittlere Fetalgewicht ist hier mit 4,92 g je Fet um ca. 5 % signifikant ($P < 0,01$) erhöht. Die Längen der Röhrenknochen liegen im Normbereich. Die Ossifikation ist teilweise weiter fortgeschritten als bei den unbehandelten Kontrollen. In dieser Versuchsgruppe, die im Verlauf der Untersuchung an die Gruppen D und E angeschlossen worden war, um gegenüber E noch stärkere Effekte zu erhalten, zeigte eine gegenüber E verdoppelte DPP-Dosis also keinerlei embryotoxische oder teratogene Wirkungen.

Eine Interpretation dieser Beobachtungen ist eigentlich nicht möglich. Experimentelle Irrtümer waren nicht aufgetreten. Die Ergebnisse werden in gewissem Umfang durch die Befunde der kombinierten Anwendung von DPP + DPH (s. u.) bestätigt. Es kann nur angenommen werden, daß für DPP ein Dosisbereich besteht, in welchem teratogene und embryotoxische Effekte bei der BD-Ratte eintreten. Wird eine kritische Dosierung überschritten, dann bleiben diese Wirkungen aus (oder kehren sich teilweise um ?). KING (1965) hat nach 6tägiger Applikation von 50 mg Chlorcyclizin/kg Körpergewicht/Tag bei Sprague-Dawley-Ratten bei 80 % der überlebenden Feten Mißbildungen gefunden,

bei 10tägiger Applikation der gleichen Dosis jedoch weder Mißbildungen noch Resorptionen. Dies wird (mit WENDLER 1975) darauf zurückgeführt, daß nach längerzeitiger Applikation der Substanz durch Induktion abbauender Enzyme die wirksame teratogene Konzentration des teratogenen Metaboliten im Keim unterschritten wird. Vielleicht existieren für DPP ähnliche Verhältnisse.

6. 3 Einfluß einer Kombination von Diphenhydramin und Diphenylpyralin auf die intrauterine Entwicklung der BD-Ratte.

Bei kombinierter Gabe von je 7,5 mg DPP + 7,5 mg DPH/kg Körpergewicht/Tag i. p. ergibt sich ein von den Wirkungen der Einzelsubstanzen abweichendes Bild (vgl. Abbildungen 9 und 10). Das durchschnittliche Gewicht der überlebenden Feten ist mit 4,95 g um etwa 6 % signifikant gegenüber dem Gewicht der unbehandelten Kontrollen erhöht. Das Wachstum der Röhrenknochen und die Ossifikation sind nur gering und in ähnlichem Ausmaß (nur wenige Prozent) verzögert. Kümmerformen kommen nicht vor. In Verbindung mit einer gleich hohen Dosis DPH unterbleibt die nach DPP eindeutige Wachstumsverzögerung der Feten. Die embryotoxische Wirkung des DPP in der Kombination mit DPH ist mit 24 % Resorptionen gegenüber 104 % Resorptionen^{x} in der nur mit DPP behandelten Gruppe E eindeutig auf ca. 1/4 reduziert (^{x} bezogen auf die Zahl der überlebenden Feten). Allerdings wurden nur in diesem Versuch ca. 6 % tote Feten registriert.

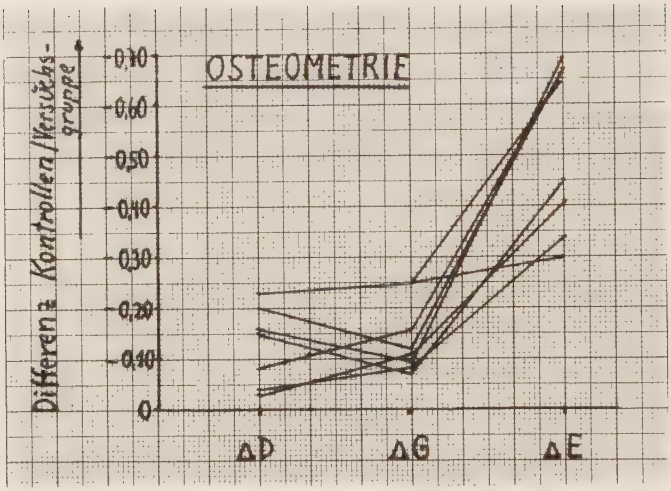


Abbildung 9: Vergleich der Wirkungen gleicher Dosierungen von DPH (D) und DPP (E) sowie einer Kombination beider Substanzen (G) auf das fetale Knochenwachstum.

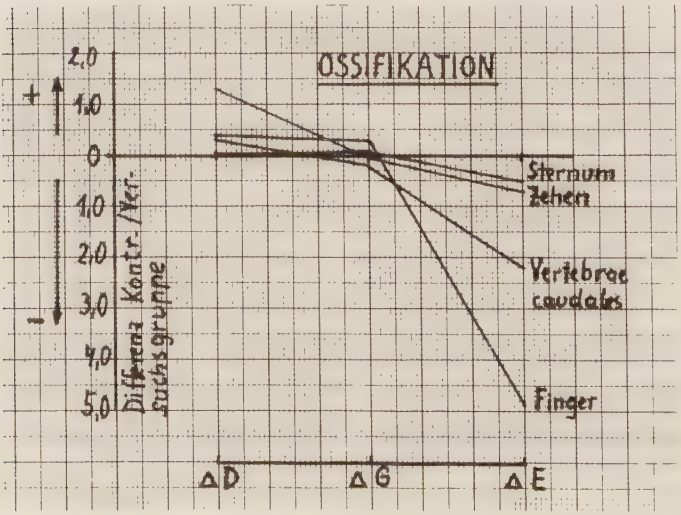


Abbildung 10: Vergleich der Wirkungen gleicher Dosierungen von DPH (D) und DPP (E) sowie einer Kombination beider Substanzen (E) auf die Ossifikation ausgewählter Skeletteile.

Obgleich die Ossifikationsmuster einen Normalbefund bieten (Abbildungen 5 - 8), kommen nur in dieser Kombination bei 5 % der überlebenden Feten Fußstellungsanomalien vor, die bereits bei makroskopischer Inspektion nach der Sectio sichtbar waren.

Bei erhaltener teratogener Potenz von DPP in einer als teratogen und embryotoxisch erwiesenen Dosierung, wird mit synchroner gleichhoher Dosierung von DPH das embryotoxische Potential stark reduziert und die Wachstumsverzögerung durch DPP vom DPH aufgehoben. Trotz ihrer chemisch nahen Verwandtschaft haben diese beiden Antihistaminika also auf die intrauterine Entwicklung der BD-Ratte einen zumindest partiell antagonistischen Effekt. Ob dies eine Konkurrenz am Wirkungsort oder eine Spezifität der beiden Substanzen oder nur ein Effekt einer durch Erhöhung unwirksamen Dosierung ist, etwa ähnlich wie bei der Anwendung von 15 mg DPP/kg Körpergewicht/Tag, ist unbekannt.

6. 4 Unterschiedliche Sensibilität der geprüften Parameter.

Embryoletalität und Teratogenität sind in den Versuchsgruppen deutlich unterschieden. In den Versuchen mit bemerkenswerter Embryoletalität, ausgedrückt in der Zahl der Resorptionen und toten Feten, weisen die überlebenden Feten reduzierte Fetalgewichte und eine verzögerte Ossifikation auf. Die Ossifikationsstörungen reichen über Aplasien und Hypoplasien bis hin zu übersteigerter Ossifikation. Die Mangelmißbildungen Aplasie

und Hypoplasie betreffen vor allem Vertebrae caudales, Sternum, Finger und Zehen. Bei denen nach DFP-Behandlung am stärksten betroffenen Tieren werden vereinzelt auch die Ossifikationen von Vertebrae sacrales, Metatarsalia und Metacarpalia betroffen. Besonders bemerkenswerte Unterschiede in der Reduktion des Knochenwachstums der Extremitätenknochen treten im Gegensatz zu BUdR-Wirkungen an der Maus nicht auf, wo z.B. Hypoplasien und Aplasien der Finger mit Verkürzungen der Armknochen verknüpft sind (ROETZ & MICHELS 1977). Die ausgemessene Breite des Os interparietale zeigt in den vorliegenden Versuchen die geringste Verkürzungstendenz.

6.5 Konstruktion von Ossifikationsmustern für teratologische Analysen.

Unter der Annahme, daß in der normalen Entwicklung eine Auffüllung von Skelettpartien wie Wirbelsäule, Sternum, Finger- und Zehenphalangen nach einem bestimmten Schema erfolgt, in dem kein Abbau einer bereits angelegten Ossifikation, sondern nur eine fortschreitende Neubildung von Knochenkernen bis zum Erreichen einer artspezifischen Normzahl erfolgt, wurden Ossifikationsmuster aus den prozentualen Häufigkeiten des Vorkommens bestimmter Zahlen (Abbildung 5-6) oder Zahlen und Anordnungen (Abbildung 7-8) von Knochenkernen berechnet und als zeitliche Abfolge konstruiert. Hiermit lassen sich aus der "Momentaufnahme" am 21. Entwicklungstag einmal die Entwicklungswege der Ossifikation, zum anderen aber auch deutlich Aplasien, Hypoplasien, Überentwicklungen und Irregularitäten eindeutig abgrenzen. Diese Methode wurde bereits von ROETZ & MICHELS (1976, 1977) bei der Analyse der Ossifikation von NMRI-Mäusen eingesetzt, die teratogenen Einflüssen (EUdR und Isotopenbelastung) ausgesetzt waren und Poly-, Syn- und Adaktylien entwickelten.

Fetalgewicht, statistisch eindeutig abgegrenzter Anteil von Kümmerformen, Bestimmung der Zahl toter und resorbierter Embryonen, Messung der Längen von Skelettelementen, qualitative Bestimmung der Ossifikation sowie quantitative Erfassung qualitativer Muster erlauben mit einfachster Methodik neue Einblicke in das komplizierte Gefüge der fetalen Entwicklung und ihrer Störung durch während der Embryonalentwicklung experimentell gesetzte exogene Faktoren.

6. 6 Zur Übertragbarkeit der Versuchsergebnisse auf den Menschen.

Die bisher einzige große deutsche prospektive Untersuchung zur Erforschung teratogener Risiken für die menschliche Gravidität (DFG 1977) wurde im Anschluß an die Thalidomid-Mißbildungswelle 1964 gestartet und liegt inzwischen als Teilergebnis vor. Bei 12612 lebend und tot geborenen Kindern waren 182 = 1,5 % mit schweren Mißbildungen behaftet. Die Anzahl"leichter" Mißbildungen wird mit 12 - 24 % angegeben, ein in der Welt wohl einmalig hoher Anteil, der zu Zweifeln Anlaß gibt. Nach HARNACK (1977) finden sich in Mitteleuropa auf 10 000 Geburten schätzungsweise 150 - 250 mißgebildete Kinder. Eine bei LANGMAN (1974) veröffentlichte Übersicht schwankt in ihren Angaben zwischen 0,75 und 8,76 % (letztere Zahl aus einer intensiven pädiatrischen Untersuchung in den USA). LANGMAN schreibt: "Es kann jedenfalls angenommen werden, daß 2 bis 3 % aller lebend Geborenen bei der Geburt eine oder mehrere charakteristische Mißbildungen aufweisen, und daß sich dieser Anteil am Ende des ersten Lebensjahres durch die Aufdeckung von Mißbildungen verdoppelt, die bei der Geburt noch nicht bemerkt wurden."
Legt man dennoch die DFG-Studie zugrunde, dann sind etwa 3000 mißgebildet geborene Kinder erfaßt. In 7871 Schwangerschaften wurde bis Mai 1976 die Arzneimitteleinnahme während der Schwangerschaft registriert. Danach nahmen ca. 17 % der Frauen Antiemetika/Antihistaminika, 12,1 % antipyretische

und 5,6 % spasmolytische Analgetika, 6,8 % sogenannte Schnupfenmittel ein. Die angeführten Pharmaka stellen nur einen geringen Ausschnitt aus der inkorporierten Medikamentenpalette dar.

Eine Zuordnung von spezifischen Mißbildungen oder auch nur einer besonderen Häufung von Mißbildungen zu bestimmten Präparaten oder Präparategruppen war jedoch in dem allerdings als Vorbericht bezeichneten Buch nicht möglich.

Die vorliegenden experimentellen Resultate für DPP, das in einer bestimmten Dosierungshöhe bei BD - Ratten teratogen wirkt, mögen Anlaß zu einer erhöhten Vorsicht in der Anwendung dieser Substanz in der menschlichen Schwangerschaft sein. Bei auf das Gewicht bezogener Wirkung entsprechen 7,5 mg DPP pro kg Ratte unter Annahme einer 60 kg schweren Schwangeren einer Tagesdosis von 450 mg. Diese Mengen werden auch als Tageshöchstdosierung (Tabelle 8) für DPP oder DPH allein oder in Kombination nie erreicht.

Bei Durchsicht der in Deutschland zur Hyperemesis gravidarum-Therapie eingesetzten Präparate fällt auf, daß hierbei Tageshöchstdosierungen von 50 mg Chlorcyclizin oder 100 mg Meclizin empfohlen werden, obgleich für beide Substanzen an z.T. mehreren Tierarten (vgl. Tabelle 1) einwandfrei Teratogenität erwiesen ist. Bei Anwendung dieser ausdrücklich für die Therapie des Schwangerschaftserbrechens empfohlenen Substanzen wurden bisher noch keine teratogene Wirkungen in der menschlichen Schwangerschaft gesehen (DFG 1977). Dies wird auch durch die eingangs zitierten Veröffentlichungen bestätigt, in denen

ebenfalls kein Zusammenhang zwischen Antiemetika - Einnahme und menschlichen Mißbildungen gefunden worden war.
Werden von einem Arzneimittel außer der Plazebowirkung auch pharmakospezifische Wirkungen erwartet, so muß stets mit dem Risiko von Nebenwirkungen gerechnet und dieses Risiko abgewogen werden. Für die im Tierversuch teratogenen Antihistaminika gilt jedoch bei ihrem Einsatz in der Humanpharmakologie (mit WILSON 1973), daß sie zu der Medikamentengruppe mit "little or no teratogenic risk" zählen.
Teratogenität beim Tier bedeutet wegen der grundsätzlichen Unterschiede in der Embryogenese (zeitlicher Verlauf, unterschiedliche Plazenten usw.), weniger wohl wegen größerer Unterschiede in der pharmakologischen Wirkung (sofern nicht das Nervensystem tangiert wird), nicht unbedingt auch Teratogenität beim Menschen.
Beim Thalidomid hat es nahezu 15 Jahre gedauert, bis nach Einführung des Resorptionsvermittlers Tween 20 (vgl. K.FICKENTSCHER und F.KÖHLER 1974) angeblich "resistente" Spezies wie Mäuse und Ratten auch typische Extremitätenmißbildungen nach Thalidomid entwickelten, wodurch biochemische Erklärungsversuche für die angebliche Resistenz hinfällig wurden. Unter Berücksichtigung dieser Details bleibt eine Übertragung von im teratologischen Tierexperiment gewonnenen Ergebnissen auf den Menschen problematisch.

Tabelle 8

Antihistaminika als Bestandteile deutscher Arzneimittel

(Auswahl; Dosisangaben nach ROTE LISTE 1976)

Substanz	maximale Tagesdosis (mg)	Präparat(R)
1. Antiemetika, Indikation Schwangerschaftserbrechen		
Meclizin	5o - 6o	Postadoxin
	5o - 1oo	Bonamine
Chlorcyclizin	5o	Peremesin
Chlorphenoxamin[1]	18o	Caps. gravid. Vetter
	24o	Supp. gravid. Vetter
	24o - 36o	Rodavan
Dimenhydrinat[2]	7o - 44o	Novomina
	2oo - 6oo	Vomex A
	3oo	Dramamine
2. Antiallergika, ohne Kontraindikation Schwangerschaft sowie ohne Warnhinweis		
Piprinhydrinat[3]	9	Kolton
Meclizin	5o - 1oo	Postafen
Methapyrilen	1oo	Copyronilium
DPH-HCl	15o	Dabylen
3. Grippemittel (symptomatische Therapie), ohne Kontraindikation Schwangerschaft und ohne Warnhinweis		
DPH-HCl	9	Exhexin
	3o	Doregrippin
	39	Benia
	4o	Grippostad
	6o	Kontragripp, -RR
	75	Benia forte
DPP-HCl	6,5	Grippinon
	8	Ozabran
	12	Doregrippin
	12	Perdiphen
	15	Tempil
	15	Poikicin
	1oo	Salichin Dr. Mann
Piprinhydrinat[3]	12	Kolton grippale

Erläuterungen: [1] = Verbindung mit struktureller Verwandtschaft zu DPP und DPH, jedoch chloriert wie Chlorcyclizin; [2] = Addukt aus DPH + 8-Chlorotheophyllinat; [3] = Addukt aus DPP und 8-Chlorotheophyllinat.
3. Gruppe, erwähnt wurden nur die Arzneimittel, die eine der Komponenten der vorliegenden Untersuchung (in Kombination mit andersartigen Pharmaka) enthalten.

7. Zusammenfassung

1. An trächtigen BD-Ratten werden die Auswirkungen der beiden medizinisch verwendeten Antihistaminika Diphenhydramin-Hydrochlorid (DPH) und Diphenylpyralin-Hydrochlorid (DPP) auf die intrauterine Entwicklung untersucht. Beide Substanzen werden einmal als 0,001 molare Lösung im Trinkwasser ad libitum für 72 Stunden zwischen dem 9. und 12. intrauterinen Entwicklungstag appliziert, zum anderen als einmal tägliche intraperitoneale Injektion von 7,5 mg/kg Körpergewicht (einzeln sowie in Kombination) an den Tagen 9 bis 12 postkoital. In einer weiteren Versuchsgruppe erhielten die Tiere entsprechend 15 mg DPP/kg Körpergewicht intraperitoneal injiziert. Unbehandelte Ratten dienten als Kontrollen. Die Schwangerschaft aller Tiere wurde am 21. Tag beendet.

2. Die überlebenden Feten wurden gewogen, der Anteil der Resorptionen, toten Feten und makroskopisch sichtbaren Mißbildungen wurde bestimmt. Durch Aufhellung der Feten und Anfärbung mit Alizarinrot S wurde das fetale Skelett so präpariert, daß Messungen der langen Röhrenknochen und des Os interparietale sowie eine genaue Bestimmung der Ossifikation des Skeletts möglich wurde.

3. Diphenhydramin hat in den gewählten Konzentrationen bei BD-Ratten weder embryoletale noch teratogene Wirkungen.

4. Diphenylpyralin, das nach amerikanischen Veröffentlichungen an Sprague-Dawley-Ratten ateratogen und nicht-embryotoxisch sein soll, führt bei i. p. Applikation von 7,5 mg/kg Körperge-

wicht und Tag während der Organogenese zu einer deutlichen Verzögerung des fetalen Wachstums, zu einer gleichmäßigen Verlangsamung des Knochenwachstums an allen untersuchten Skeletteilen, erzeugt in etwa 50 % der Fetalanlagen Absterben der Tiere und induziert deutliche Störungen der Ossifikation. Etwa 1/3 aller überlebenden Feten sind Kümmerformen.
Bei über den Tag verteilter Applikation im Trinkwasser von ca. 40 mg DPP je Kilogramm Körpergewicht ist die Embryotoxizität abgeschwächt, Resorptionen fehlen. Das Gewicht der lebenden Feten ist stark reduziert, der Anteil der Kümmerformen liegt ebenfalls bei 33 %. Die Ossifikation ist stark gestört an den unteren Abschnitten der Wirbelsäule, dem Sternum, den Metatarsalia und Metacarpalia sowie an den Phalangen von Fingern und Zehen. Aplasien treten auf von Vertebrae caudales, Finger- und Zehenphalangen (je in 24 %) sowie vom Sternum (12 % der Tiere). Im Vergleich mit der normalen Ossifikation müssen diese Aplasien als echte Mißbildungen angesehen werden.
5. In der Kombination DPH + DPP sind die embryotoxischen Effekte des DPP stark abgeschwächt, aber noch nachweisbar. Die am Fetalgewicht und Knochenwachstum ablesbare Hemmwirkung des DPP wird durch DPH aufgehoben, desgleichen ist der Anteil an Ossifikationsstörungen stark abgeschwächt. Allerdings werden nur in diesem Versuch bei 5 % der Tiere makroskopisch sichtbare Fußstellungsanomalien gefunden und sind 6 % der relativ normal entwickelten Feten abgestorben.
6. Bei täglicher i. p. Applikation von 15 mg/kg Körpergewicht an den Tagen 9 - 12 findet eher eine gewisse Förderung der Ent-

wicklung als deren Hemmung statt. Die Feten sind schwerer und bei normaler Ossifikation weiter entwickelt.

7. Die Literatur über die bislang bekannten teratogenen Wirkungen von Antihistaminika, besonders derjenigen, die ausdrücklich seit mehr als einem Jahrzehnt in der menschlichen Schwangerschaft in der Therapie der Hyperemesis gravidarum Verwendung finden, wird zusammengestellt und ausgewertet. Diese, sowie die eigenen Befunde, werden im Zusammenhang mit epidemiologischen Erhebungen beim Menschen diskutiert. Trotz eindeutiger tierexperimenteller Teratogenität und Embryotoxizität an mindestens einer, oft auch an mehreren Tierspezies, müssen Antihistaminika zu den Pharmaka gezählt werden, denen "little or no teratogenic risk" (WILSON 1973) zukommt.

8. Literaturverzeichnis

ARZNEIMITTELBRIEF, DER (1977) - Klinische Pharmakologie der Antihistamine. Kleine Gebrauchsanweisung für Antihistamine. 11:1, 1 - 4.

AUERBACH, C., & M. V. BARROW (1972) - Urogenital abnormalities produced in rat fetuses with chlorcyclizine. Teratologie 5, 23 - 31.

BANGEL, E. (1976) - Untersuchungen zur Kontraindikation Gravidität der Roten Liste 1974 für aloehaltige Arzneimittel. Medizin. Dissertation FU Berlin.

CAVALLI-SFORZA, L. (1964) - Grundbegriffe der Biometrie, insbesondere der statistischen Methoden bei der Wertbemessung biologisch wirksamer Substanzen. Fischer, Stuttgart.

DFG (1977) - Schwangerschaftsverlauf und Kindesentwicklung. Bisherige Ergebnisse eines seit 1964 geförderten Schwerpunktprogramms (Stand Mai 1976). Im Auftrag der Senatskommision für teratologische Fragen. H. Boldt - Verlag, Boppard.

FARKAS, G., & G. FARKAS jr. (1971) - Teratogene Wirkungen von Hyperemesis gravidarum und der bei ihrer Behandlung üblichen Medikamente. Zbl. Gynäkol. 93, 325 -330.

FICKENTSCHER, K., & F. KÖHLER (1974) - Teratogenicity and Embryotoxicity of Thalidomide and 3'Aza - Thalidomide in mice. Pharmacology 11, 193 - 198.

FORTH, W., D. HENTSCHLER, W. RUMMEL (1975) - Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 1. Aufl. Bibliographisches Institut Mannheim/Wien/Zürich.

GROTE, W. (1969) - Mißbildungen des Rumpfskeletts nach mütterlichem Blutverlust bei Kaninchen. Zeitschr. Anatom. Entwicklungsgesch. 128, 66 - 74.

HABERMANN, E., H. LÖFFLER, (1975) - Spezielle Pharmakologie als Basis der Arzneitherapie. 1. Aufl., Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.

HARNACK, G.-A. (1977) - Lehrbuch der Kinderheilkunde. 4. Auflage Springer Verlag Berlin Heidelberg New York.

HUETER, J. (1973) - Empfehlungen zur allgemeinen Arzneimittelbehandlung während der Schwangerschaft. Zschr. Allgemeinmedizin 49, 519 - 521.

IULIUCCI, J. D. & H. P. GAUTIERI (1971) - Morphine-induced fetal malformations. II. Influence of histamine and diphenhydramine. J. Pharmaceut. Sci. 60, 420-425.

JENSH, H. P. & R. L. BRENT (1966) - Rapid schedules for KOH clearing and alizarin red S staining of fetal rat bones. Stain Technol. 41, 179 - 183.

KENDRICK, P. J. & S. A. WEAVER (1963) - Alteration in amniotic fluid volume and other findings in meclizine hydrochloride induced anomalies. Proc. Soc. exper. Biol. Med. 114, 747 - 750.

KING, C. T. G. (1963) - Teratogenic effects of meclizine hydrochloride in the rat. Science 141, 353 - 355.

KING, C. T. G., & J. HOWELL (1966) - Teratogenic effects of buclizine and hydroxyzine in the rat and chlorcyclizine in the mouse. Amer. J. Obstetr. Gynecol. 95, 109 - 111.

KING, C. T. G., WEAVER, S. A., & A. A. NARROD (1965) - Antihistamines and teratogenicity in the rat. J. Pharmacol. exper. Therapeutics 147, 391 - 398.

KNOCHE, C. & J. KÖNIG (1964) - Zur pränatalen Toxizität von Diphenylpyralin-8-chlor-theophyllinat unter Berücksichtigung von Erfahrungen mit Thalidomid und Coffein. Arzneimittel-Forsch. 14, 415 - 424.

von KREYBIG, T. (1968) - Experimentale Praenatal-Toxikologie. Arzneimittel-Forsch. 17, Beiheft. Editio Cantor, Aulendorf i. Württ.

KUEMMERLE, H. P. & H. STAMM (1973) - Spezielle klinische Pharmakologie in der Schwangerschaft. In: KUEMMERLE - GARRETT - SPITZY (eds.): Klinische Pharmakologie und Pharmakotherapie. 2. Aufl., Urban & Schwarzenberg, München - Berlin - Wien, S. 947 - 953.

KUSCHINSKY, G., & H. LÜLLMANN (1974) - Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. 6. Aufl., Thieme, Stuttgart.

LANGMAN, J. (1974) - Medizinische Embryologie. Die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen. 3. Aufl., Thieme, Stuttgart.

LORKE, D. (1975) - Die Bedeutung des Behandlungszeitraums während der Trächtigkeit für eine embryotoxische Wirkung. Vortrag am Pharmakol. Inst. der FU Berlin vom 3. 2. 1975.

MAUSS, H. J. (1971) - Neuere Untersuchungen zum Arzneimittelkonsum während der Schwangerschaft. Deutsche med. Wschr. 97, 1637 - 1639.

MECLIZIN-SYMPOSIUM (1963) - Überblick über die Referate beim Meclizin-Symposium vom 1. Juni 1963 (Soc. Royale Belge de Gynec. et d'Obstetr., Brüssel). Deutsch. med. J. 14, 859 - 862.

MERCK INDEX (1968) - The Merck Index. An encyclopedia of chemicals and drugs. 8. Aufl. Merck & Co. Inc., Rahway, N. J., USA.

MICHELS, G. (1976) - Versuch zu einer quantitativen Charakterisierung der teratogenen Effekte von 5-Brom-2-desoxyuridin an der fetalen Extremität von NMRI-Mäusen. Veterinärmed. Dissertation, FU Berlin.

MOELLIN, G. W., & M. KATZENSTEIN (1963) - Meclozine and fetal abnormalities. Lancet i, 222.

MUTSCHLER, E. (1973) - Arzneimittelwirkungen. Ein Lehrbuch der Pharmakologie für Pharmazeuten, Chemiker und Biologen. 2. Aufl., Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft, Stuttgart.

NARANJO, P., & E. de NARANJO (1968) - Embryotoxic effects of antihistamines. Arzneimittel-Forsch. 18, 188 - 194.

NARROD, M. V., A. L. WILK & C. T. G. KING (1965) - Metabolism of meclizine in the rat. J. Pharmacol. exper. Therapeutics 147, 380 - 384.

NELSON, M. M., & J. O. FORFAR (1971) - Associations between drugs administered during pregnancy and congenital abnormalities of the fetus. Brit. med. J. 1, 523-527.

NORA, J. J., NORA, A. H., SOMMERVILLE, M. J., HILL, R. M. & D. G. Mc NAMARRA (1967) - Maternal exposure to potential teratogens. J. Amer. Med. Assoc. 202, 1065 - 1069.

FADBERG, G. (1964) - Biochemische Untersuchungen über die Reifung des fötalen Bindegewebes unter dem Einfluß von Diphenylpyralin-8-chlortheophyllinat und Coffein. Arzneimittel-Forsch. 14, 424 - 428.

PETERS, S., & M. STRASSBURG (1969) - Stress als teratogener Faktor. Tierexperimentelle Untersuchungen zur Erzeugung von Gaumenspalten. Arzneimittel-Forsch. 19, 1106 - 1111.

POSNER, H. S., & A. DARR (1970) - Fetal edema from benzhydrylpiperazines as a possible cause of oral-facial malformations in rats. Toxicol. appl. Pharmacol. 17, 67 - 75.

POSNER, H. S., GRAVES, A., KING, C. T. G., & A. WILK (1967) - Experimental alteration in the metabolism of chlorcyclizine and the incidende of cleft palate in mice. J. Pharmacol. exper. Therapeutics 155, 494 - 505.

POSNER, H. S., & DARR, A. (1967) - Fetal edema and oral-facial malformations. Pharmacologist 9(2), 206.

POSNER, H. S., DARR, A. & M. V. BARROW (1970) - Anomalies of the internal organs and diminished calcification of vertebrae in fetuses after benzhydrylpiperazine treatment of pregnant rats. Toxicol. appl. Pharmacol. 17, 76 - 82.

ROETZ, R., & G. MICHELS (1976) - Quantitative Aspekte der teratogenen Wirkung von 5-Brom-2-desoxyuridin (BUdR) an der fetalen Mäuseextremität. 71. Versamml. Anatom. Gesellschaft, Rostock/Warnemünde, 5. - 9. 4. 1976 (publ.: Verhandl. Anatom. Ges. 71, 629 - 634, 1977).

ROTE LISTE 1976

SAXEN, I. (1974) - Cleft palate and maternal diphenhydramin intake. Lancet i, 407 - 408.

SCHARDEIN, J. L., HERTZ, D. L., PETRERE, J. A., & S. M. KURTZ (1971) - Teratogenesis studies with diphenylhydramine HCl. Toxicol. appl. Pharmacol. 18, 971 - 978.

SHAPIRO, S., ROSS, L. J., & H. S. LEVINE (1965) - Relationship of selected prenatal factors to pregnancy outcome and congenital anomalies. Amer. J. Publ. Health 55, 268-282.

SHEIESNYAK, M. C., & A. M. DAVIES (1955) - Disturbances of pregnancy in mouse and rat by systemic antihistaminic treatment. Proc. Soc. exper. Biol. Med. 89, 629 - 632.

SOERGEL, W. (1960) - Über die Bedeutung der Schwangerschaftsanamnese für die Beurteilung angeborener Mißbildungen. Med. Welt 1960, Nr. 41, 2154 - 2158.

STEFFEK, A. J., FABIYI, A., & C. T. G. KING (1968) - Chlorcyclizine produced cleft palate in the ferret. Arch. oral Biol. 13, 1281 - 1283.

TUCHMANN-DUPLESSIS, H., & L. MERCIER-PAROT (1963) - Action du chlorhydrate de cyclizine sur la gestation et la developement embryonnaire de rat, de souris et du lapin. A. R. Acad.Sci. (Paris), 256, 3359 - 3362.

WADDELL, W. J., & W. P. WANNE (1971) - The effect of pretreatment with phenobarbital on the teratogenic action of chlorcyclizine in mice. Arch. internat. Pharmacodyn. 194, 168 - 173.

WENDLER, D. (1975) - Stand und Perspektiven des teratologischen Screening. Zbl. Pharm. 114, 675 - 683.

WILBRANDT, W. (1963) - Die Bedeutung der Thalidomid - Unfälle. Schweizer. med. Wschr. 93, 1011 - 1014.

WILK, A. L. (1969) - Production of fetal rat malformations by norchlorcyclizine and chlorcyclizine after intrauterine applikation. Teratology 2, 55 - 66.

WILK, A. L., STEFFEK, A. J., & C. T. G. KING (1970) - Norchlorcyclizine analogs. Relationship of teratogenic activity to in vitro cartilage binding. J. Pharmacol. exper. Therapeutics 171, 118 - 126.

WILSON, J. G. (1973) - Present status of drugs as teratogens in man. Teratology 7, 3 - 16.

YERUSHALMY, J., & L. MILKOVICH (1965) - Evaluation of the teratogenic effect of meclizine in man. Amer. J. Obst. Gynecol. 93, 553 - 562.

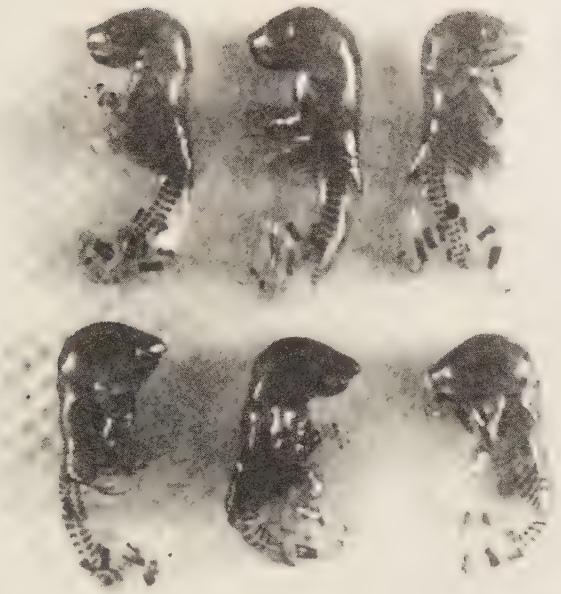
ANHANG

Abbildung A1

Zur Skelettanalyse vorbereitete Präparate eines Kontrollwurfes.

Abbildung A2

Zur Skelettanalyse vorbereitete Präparate eines Wurfes, dessen Muttertier zwischen d. 9 - 12 p.c. mit 7,5 mg Diphenylpyralin-HCL/kg/d i.p. behandelt wurden. Die Tiere dieser Gruppe Eb sind weniger weit entwickelt.



A1

A2

Die nachfolgenden histologischen Bilder wurden aus Präparaten gewonnen, die mittels der üblichen Hämatoxylin - Eosin Färbung hergestellt wurden.

Abbildung A3

Querschnitt einer Darmschlinge mit Mesenterium (M), Gefäß (G), normal differenziert.

Abbildung A4

Fetale Leber, zwischen den Leberepithelien befinden sich zahlreiche blutbildende Zellen.

G
M
A3

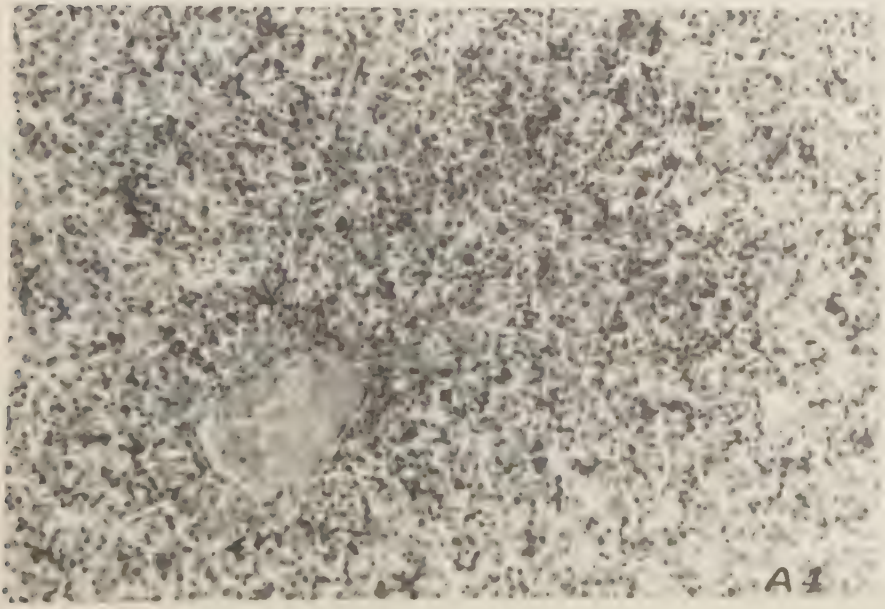

A1

Abbildung A 5

Kontrolltier am 21. intrauterinen Entwicklungstag. Region der Einmündung des Oesophagus (O) in den Magen, im Schnitt von typischem fetalen Lebergewebe (L) umgeben.

Abbildung A 6

Fetale Milz; noch nicht völlig differenzierte weiße Pulpa mit einigen weiten Blutsinus.

O
A 5

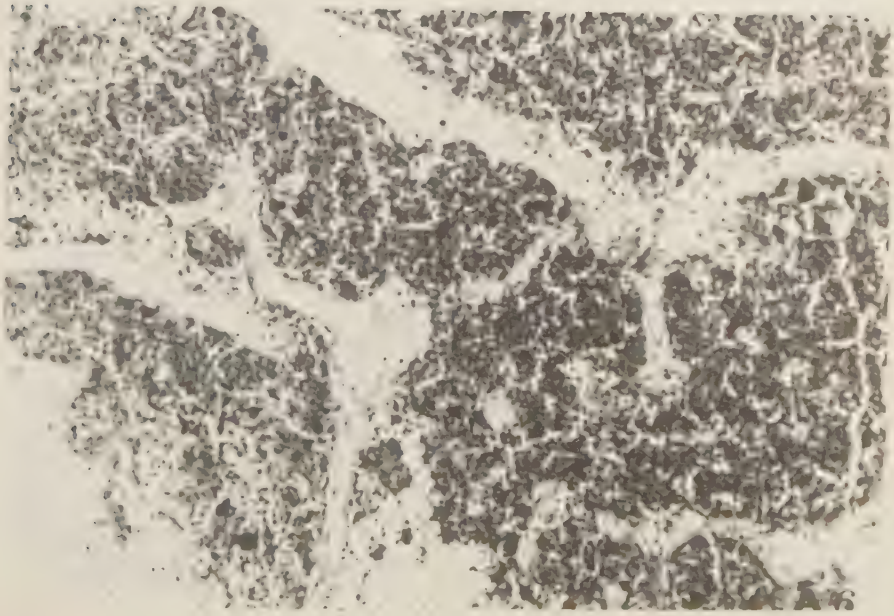
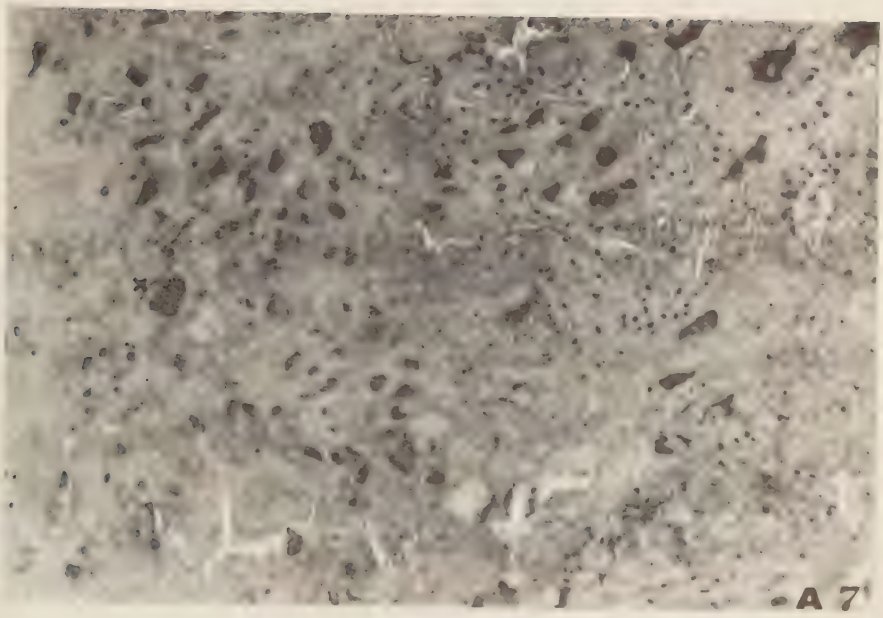


Abbildung A 7

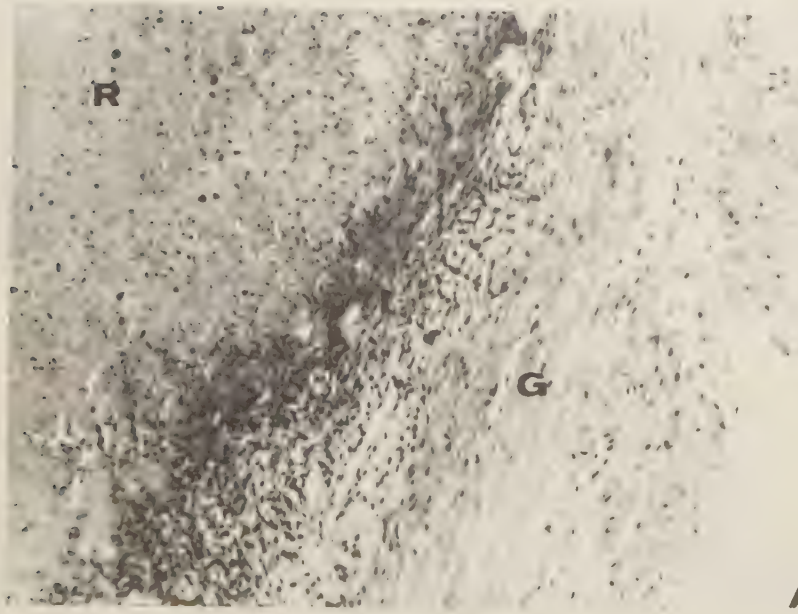
Bild einer Resorption nach Diphenylpyralin (Gruppe Eb). Primitives, wenig differenziertes Gewebe mit unregelmäßig geformten Zellen und mit unregelmäßigen, manchmal gigantischen Zellkernen (x).

Abbildung A 8

Normale Uteruswand mit hypertrophierter glatter Muskulatur und dünnwandigen Gefäßen (G) an der eine Resorption (R) sitzt. An der Grenze zwischen Uteruswand und Resorption ein kleinzelliges Infiltrat (I).



A 7



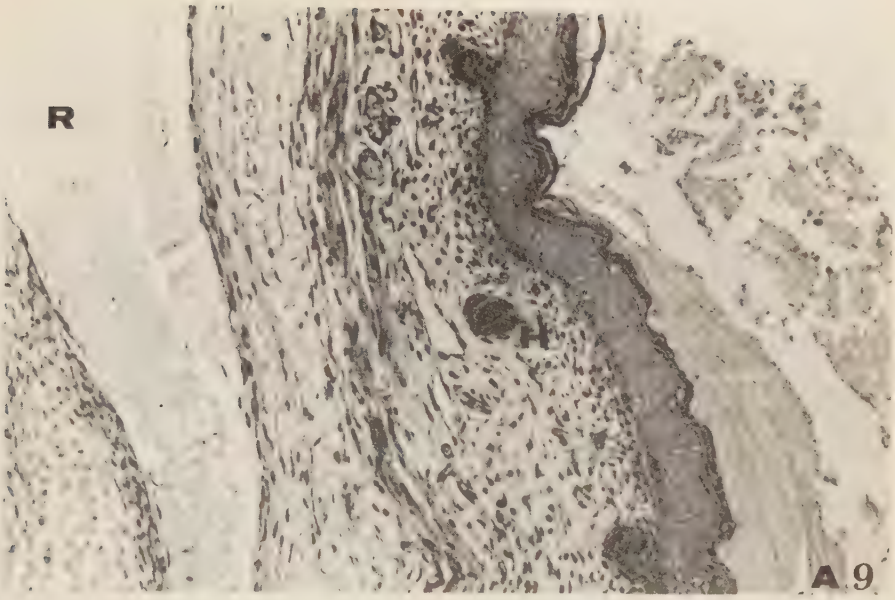
A 8

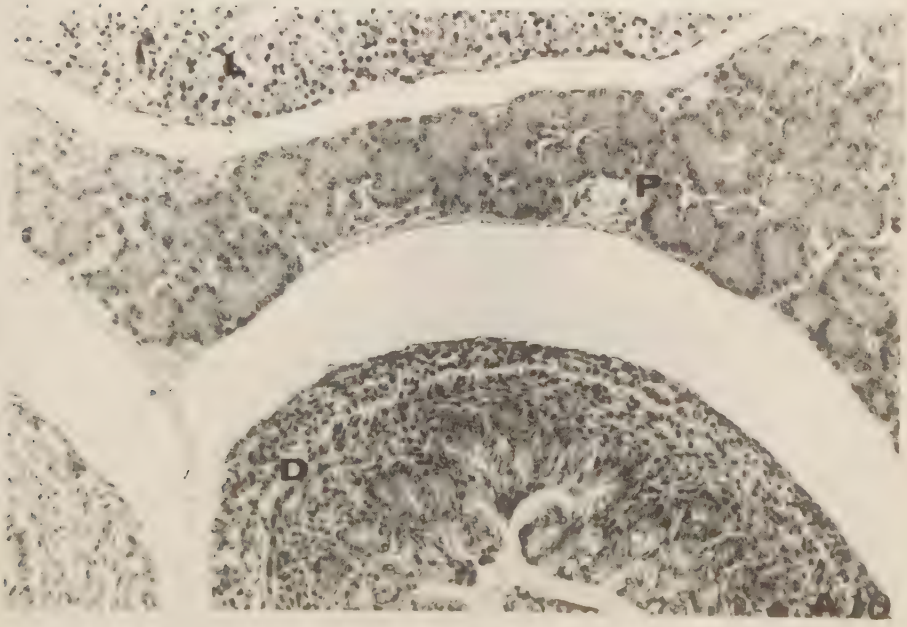
Abbildung A 9

Normale Rückenhaut mit Haaranlagen (H). Differenzierte quergestreifte Rückenmuskulatur. Rückenmarkskanal (R) mit wenig differenzierter weißer Rückenmarksubstanz.

Abbildung A 10

Anschnitt einer Darmschlinge (D), des Pankreas (P) und der fetalen Leber (L). Keine Anzeichen für pathologische Veränderungen.


R
H
A 9


P
D
A 10

Herrn Prof. Dr. med. Milan Pospisil, Anatomisches Institut, danke ich für die Überlassung des Themas und sein stetes förderndes Interesse.
Mein Dank gilt dem Sonderforschungsbereich "Embryonal-Pharmakologie" an der Freien Universität Berlin für die Bereitstellung von Tiermaterial sowie allen den Mitarbeitern am Anatomischen Institut, die mir praktische Anleitungen gegeben haben.
Herr Assistenzprofessor Dr. rer.nat. Richard Roetz, Anatomisches Institut, hat mich bei der Durchführung der Versuche und deren Auswertung sowie der Bearbeitung der teratologischen Literatur beraten. Ich möchte ihm dafür auch an dieser Stelle meinen Dank aussprechen.

Lebenslauf

Am 7. Jan. 1947 wurde ich als Sohn des Dr. med. Werner Bangel und seiner Ehefrau Hanne Bangel, geb. Decius in Westhofen/Rheinhessen geboren.
Nach dem Besuch der Volksschule in Westhofen und des humanistischen Gymnasiums in Mannheim, bestand ich im Juni 1967 die Reifeprüfung.

Zunächst begann ich mit dem Studium der Biologie in Frankfurt/M. Ich wechselte dann die Fachrichtung und studierte Humanmedizin bis zum Physikum am 4. 10. 1972 an den Universitäten in Frankfurt/M. und Mainz. Im klinischen Teil des Studiums war ich an der Freien Universität Berlin immatrikuliert und bestand dort am 20. Febr. 1976 die Ärztliche Prüfung mit der Note "sehr gut".

Die Medizinalassistentenzeit absolvierte ich im Klinikum Westend bei Prof. Bücherl, an den Städtischen Krankenhäusern Neukölln und Wilmersdorf (Prof. Wagner, Prof. Falck) und am Anatomischen Institut der Freien Universität bei Prof. Merker.

Am 2. Mai 1977 erhielt ich meine Approbation als Arzt. In den folgenden Monaten brachte ich meine Dissertation zum Abschluß. Seit August 1977 bin ich als Assistent in einer großen internistischen Facharztpraxis tätig.

Jochen Bangel